



**Universidade de Aveiro**

Departamento de Biologia

**Ano 2011**

**Sónia Luísa Tomaz** **Qualidade Microbiológica da Água das Piscinas do**  
**Meireles** **Distrito de Aveiro**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Adelaide Almeida, Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e sob co-orientação da Doutora Maria do Rosário Fátima Lopes Figueiredo, Laboratório de Saúde Pública de Aveiro.

## **O júri**

Presidente

**Prof.<sup>a</sup> Doutora Maria de Lourdes Gomes Pereira**

Prof. Associado c/ Agregação  
Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Vogais

**Doutora Anabela Pereira**

Investigadora em Pós-Doutoramento do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM) da Universidade de Aveiro

**Prof.<sup>a</sup> Doutora Maria Adelaide de Pinho Almeida**

Professora Auxiliar  
Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro (orientadora)

**Doutora Maria do Rosário Fátima Lopes Figueiredo**

Técnica Superior  
Laboratório de Saúde Pública de Aveiro (co-orientadora)

## **Agradecimentos**

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração desta Dissertação/Tese de Mestrado os meus mais sinceros agradecimentos.

À Professora Doutora Adelaide Almeida, minha orientadora, pelo acompanhamento, ajuda e disponibilidade durante estes meses de realização da minha tese de mestrado, sem a qual a execução desta não seria possível.

Às, Doutora Ana Félix, Doutora Ivone Loureiro e Doutora Rosário Figueiredo, deixo o meu muito obrigada pela sua ajuda.

Aos Técnicos de Saúde Ambiental dos concelhos de Anadia, Arouca, Aveiro, Estarreja, Ílhavo, Mealhada, Oliveira do Bairro, Ovar, Santa Maria da Feira, Sever do Vouga e Vagos, muito obrigada pela disponibilidade e pela ajuda.

À minha família agradeço o apoio e a paciência demonstrada ao longo destes meses.

Aos meus amigos, em especial à Luísa, à Ana e à Joana, muito obrigada, pela amizade, apoio, ajuda, paciência e disponibilidade. Sem o vosso apoio tinha sido tudo muito mais difícil.

## Palavras-chave

Piscina, qualidade da água, cloro residual livre, microrganismos indicadores, bactérias patogénicas.

## Resumo

A utilização das piscinas tem-se generalizado ao longo dos tempos, sendo a natação uma atividade importante para centenas de milhões de pessoas pelo mundo, estando associada a benefícios significativos para a saúde. Contudo, são também muitos os perigos associados a esta atividade tornando indispensável a monitorização da qualidade da água. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade da água das piscinas públicas do Distrito de Aveiro, durante o período de 2004-2010. A avaliação dos resultados foi realizada segundo o Decreto Regulamentar nº 5/97 e a Circular Normativa 14/DA.

Foram analisados os resultados de 1886 amostras de água provenientes de 32 piscinas do distrito de Aveiro. A avaliação da qualidade da água foi realizada através da pesquisa e quantificação de microrganismos a 37°C, bactérias coliformes, coliformes fecais/*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos coagulase positiva, número total de estafilococos e do teor de cloro residual livre e pH.

Os resultados mostraram que, no geral, 10,5% das amostras foram classificadas do ponto de vista microbiológico como impróprias. Porém, algumas piscinas (7 e 8) apresentaram águas de má qualidade com muita frequência, atingindo percentagens de águas impróprias de 34-39%. A percentagem de amostras impróprias diminuiu quando os valores de cloro residual livre se encontravam acima do valor limite e aumentou quando os valores de cloro residual estavam abaixo do valor limite. Os parâmetros microbiológicos que mais vezes ultrapassaram o valor limite foram os microrganismos a 37°C (em 3,6%) e o número total de estafilococos (em 4,0%). *Pseudomonas aeruginosa*, os estafilococos coagulase positiva e o número total de estafilococos foram os parâmetros microbiológicos mais frequentemente detetados quando o valor de cloro estava acima do valor limite. As piscinas que utilizaram a radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção apresentaram uma percentagem média de amostras impróprias (8,5%) inferior à média geral.

Apesar da qualidade microbiológica das águas das piscinas do Distrito de Aveiro ser, no geral, aceitável, é necessário alterar o tratamento das águas das piscinas 7 e 8, devido à má qualidade microbiológica das suas águas, e da piscina 30, devido ao elevado teor de cloro residual livre na água, de forma a evitar a formação de produtos potencialmente cancerígenos nas suas águas.

## Keywords

Swimming pools, water quality, free residual chlorine, indicating microorganisms, pathogenic bacteria

## Abstract

The use of swimming pools has been wide spreading throughout the years, swimming being an important hobby for millions of people in the world, and being associated with important health benefits. However, the dangers associated with this activity are also quite significant, making monitoring of the water quality a must. This study has as a goal to assess the quality of the water in public swimming pools in the District Aveiro between 2004 -2010. The assessment of results was made according specific laws: Decreto Regulamentar nº 5/97 and Circular Normative 14/DA.

The results of 1886 samples coming from 32 public swimming pools in the District Aveiro were studied. The quality assessment was conducted through the research and quantification of microorganisms at 37°C, but also coliform bacteria, fecal coliforms/*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, staphylococcus, positive coagulase, total number of staphylococcus and free chlorine level and water ph.

The results show that, in general, 10.5% of samples were classified as microbiologically improper. In spite of that, some swimming pools (7 and 8) had bad quality water very often, with a percentage of improper water up to 34-39%.

The percentage of samples classified as improper decreased where the levels of free residual chlorine were above the limit and increased when these values were below the level. The microbiological parameters with the largest percentage of samples above the limit were those concerning total number of staphylococcus (in 4.0 %) and microorganisms at 37°C (in 3. 6%). *Pseudomonas aeruginosa*, staphylococcus coagulase positive and total number of staphylococcus were the microbiological parameters more frequently detected when the chlorine levels were above the limit value. The swimming pools that used ultraviolet disinfection as a complementary treatment have presented a percentage of improper samples (8.5%) lower than the average.

Although the microbiological quality of water is, in the District Aveiro, in general acceptable, it's necessary to change the water treatment in swimming pools 7 and 8 because of their microbiological bad quality, and of swimming pool 30 because of the high levels of residual free chlorine, in order to avoid the constitution of potential carcinogenic substances in its waters.

## Índice

Índice de figuras .....	ix
Índice de tabelas.....	x
Lista de abreviaturas .....	xii
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Definição e caracterização das piscinas .....	1
1.2 Perigos associados à utilização de piscinas .....	3
1.2.1 Perigos físicos.....	3
1.2.2 Perigos químicos .....	4
1.2.3 Perigos biológicos .....	6
1.3 Tratamento da água de piscinas.....	9
1.3.1 Circulação da Água.....	10
1.3.2 Água de compensação .....	11
1.3.3 Clarificação da água .....	11
1.3.4 Desinfecção de água de piscina.....	12
1.3.4.1 Cloro .....	13
1.3.4.2 Bromo .....	14
1.3.4.3 Ozono .....	15
1.3.4.4 Radiação ultravioleta.....	15
1.4 Avaliação da qualidade da água de piscinas .....	16
1.4.1 Microrganismos indicadores e patogénicos pesquisados em águas de piscina....	17
1.4.1.1 Microrganismos indicadores .....	17
1.4.1.2 Microrganismos patogénicos .....	19

1.5 Legislação utilizada para avaliar a qualidade da água em piscinas.....	21
1.5.1 Legislação utilizadas a nível nacional.....	21
1.5.2 Legislação utilizadas a nível internacional.....	23
1.6 Problemas de saúde associados à utilização de piscinas. ....	26
1.7 Objetivos do trabalho .....	28
<b>2. Material e Metodos.....</b>	<b>29</b>
2.1 Caracterização do local de estudo e das amostras analisadas.....	29
2.1.1 Caracterização do local de estudo .....	29
2.1.2 Caracterização das amostras analisadas .....	29
2.2 Legislação utilizada para a classificação das águas das piscinas .....	31
2.3 Métodos de detecção utilizados.....	33
2.3.1 Métodos de detecção dos parâmetros microbiológicos .....	33
2.3.1.1 Microrganismos cultiváveis a 37°C.....	33
2.3.1.2 Bactérias coliformes .....	33
2.3.1.3 Coliformes fecais/ <i>E. coli</i> .....	34
2.3.1.4 Enterococos .....	35
2.3.1.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	36
2.3.1.5 Estafilococos coagulase positiva e número total de estafilococos .....	37
2.3.2 Métodos de detecção dos parâmetros químicos.....	38
2.3.2.1 Cloro residual livre.....	38
2.3.2.2 pH .....	38
2.4 Tratamento estatístico .....	38
<b>3. Resultados.....</b>	<b>41</b>
3.1 Classificação microbiológica das águas de piscinas do Distrito de Aveiro .....	41

3.2 Avaliação da qualidade microbiológica das águas por parâmetro .....	42
3.3 Avaliação da qualidade microbiológica da água por piscina.....	45
3.4 Avaliação da qualidade microbiológica ao longo do período de estudo. ....	49
3.5 Avaliação da qualidade microbiológica de piscinas desinfetadas com cloro e com radiação ultravioleta.....	50
<b>4. Discussão/Conclusão.....</b>	<b>53</b>
<b>5. Bibliografia.....</b>	<b>63</b>



## Índice de figuras

<b>FIGURA 1:</b> POSSÍVEIS CONTAMINANTES QUÍMICOS DA ÁGUA DE PISCINAS (WHO, 2006). .....	4
<b>FIGURA 2:</b> ESQUEMA DE TRATAMENTO NUMA PISCINA (WHO, 2006). .....	10
<b>FIGURA 3:</b> MAPA DO DISTRITO DE AVEIRO (RETIRADO DE [1]).....	29
<b>FIGURA 4:</b> <i>ESCHERICHIA COLI</i> E <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> EM MEIO GELOSADO DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO. .....	35
<b>FIGURA 6:</b> <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> EM <i>BEA</i> .....	35
<b>FIGURA 5:</b> <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> EM MEIO AGAR SLANETZ & BARTLEY .....	35
<b>FIGURA 7:</b> <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> EM MEIO DE <i>PSEUDOMONAS ISOLATION AGAR</i> .....	36
<b>FIGURA 8:</b> <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> EM MEIO DE AGAR MANITOL SALGADO.....	38
<b>FIGURA 9:</b> CLASSIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS POR LOCAL DE COLHEITA ENTRE 2004 E 2010. .....	45
<b>FIGURA 10:</b> A) TEOR DE CLORO RESIDUAL LIVRE POR LOCAL DE COLHEITA ENTRE 2004 E 2010; B) TEOR DE CLORO RESIDUAL LIVRE NAS AMOSTRAS CLASSIFICADAS MICROBIOLOGICAMENTE COMO PRÓPRIAS, POR LOCAL DE COLHEITA, AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO; C) TEOR DE CLORO RESIDUAL LIVRE NAS AMOSTRAS CLASSIFICADAS MICROBIOLOGICAMENTE COMO IMPRÓPRIAS, POR LOCAL DE COLHEITA, AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	47
<b>FIGURA 11:</b> A) CLASSIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DAS PISCINAS DO DISTRITO DE AVEIRO ENTRE 2004 E 2010. B) PERCENTAGEM DE AMOSTRAS CLASSIFICADAS COMO IMPRÓPRIAS ENTRE 2004 E 2010.	49
<b>FIGURA 12:</b> VARIAÇÃO DA PERCENTAGEM DE TEOR DE CLORO RESIDUAL LIVRE ENTRE 2004 E 2010.....	50
<b>FIGURA 13:</b> VARIAÇÃO DA PERCENTAGEM DE AMOSTRAS CLASSIFICADAS MICROBIOLOGICAMENTE COMO PRÓPRIAS SEGUNDO A UTILIZAÇÃO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA COMO TRATAMENTO COMPLEMENTAR DE DESINFECÇÃO.....	51

## Índice de tabelas

<b>TABELA 1:</b> AGENTES BIOLÓGICOS QUE PODEM REPRESENTAR PERIGO EM PISCINAS OU AMBIENTES SIMILARES (WHO, 2006). .....	8
<b>TABELA 2:</b> PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS A ANALISAR, NO ÂMBITO DO PROGRAMA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE PISCINAS.....	22
<b>TABELA 3:</b> PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS A ANALISAR, EM PISCINAS COM ÁGUA DOCE, ÁGUA DO MAR OU ELETRÓLISE SALINA, NO ÂMBITO DO PROGRAMA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE PISCINAS. ....	23
<b>TABELA 4:</b> PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS A PESQUISAR NAS ÁGUAS DE PISCINAS PÚBLICAS E SEMI-PÚBLICAS, EXPRESSÃO DOS RESULTADOS, VALORES DE REFERÊNCIA E PERIODICIDADE DAS ANÁLISES (WHO, 2006).....	24
<b>TABELA 5:</b> PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS A PESQUISAR NAS ÁGUAS DE PISCINAS, EXPRESSÃO DOS RESULTADOS, VALORES DE REFERÊNCIA E PERIODICIDADE DAS ANÁLISES SEGUNDO O CÓDIGO DE PRÁTICA BSI PAS 39:2003 (HPA, 2005). ....	24
<b>TABELA 6:</b> PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS A PESQUISAR NAS ÁGUAS DE PISCINAS DE USO COLECTIVO, EXPRESSÃO DOS RESULTADOS, VALORES DE REFERÊNCIA E PERIODICIDADE DAS ANÁLISES (DECRETO 23/1999, 1999).....	25
<b>TABELA 7:</b> PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM PARA PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS, SEGUNDO A CIRCULAR NORMATIVA 14/DA, 2009. ....	31
<b>TABELA 8:</b> PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS ANALISADOS NESTE ESTUDO. ....	32
<b>TABELA 9:</b> PARÂMETROS QUÍMICOS ANALISADOS NESTE ESTUDO.....	32
<b>TABELA 10:</b> ETAPAS REQUERIDAS PARA A CONFIRMAÇÃO DE COLÓNIAS QUE SE DESENVOLVEM EM CN AGAR.	37
<b>TABELA 11:</b> RELAÇÃO ENTRE O TEOR DE CLORO RESIDUAL LIVRE E A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS.....	41

<b>TABELA 12:</b> NÚMERO E PERCENTAGEM DE AMOSTRAS QUE ULTRAPASSARAM O VALOR LIMITE PARA OS DIFERENTES PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS ANALISADOS.....	42
<b>TABELA 13:</b> NÚMERO E PERCENTAGEM DE AMOSTRAS QUE ULTRAPASSARAM O VALOR LIMITE PARA OS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS QUANDO OS MICRORGANISMOS INDICADORES ULTRAPASSAVAM O VALOR LIMITE. ....	43
<b>TABELA 14:</b> NÚMERO E PERCENTAGEM DE AMOSTRAS QUE ULTRAPASSARAM O VALOR LIMITE PARA OS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS QUANDO OS MICRORGANISMOS INDICADORES ESTAVAM ABAIXO DO VALOR LIMITE. ....	44
<b>TABELA 15:</b> PERCENTAGEM E NÚMERO DE AMOSTRAS SEGUNDO OS VALORES DE CLORO RESIDUAL LIVRE POR PARÂMETROS NAS ÁGUAS DE PISCINA CLASSIFICADAS MICROBIOLOGICAMENTE COMO IMPRÓPRIAS, DURANTE O PERÍODO DE ESTUDO. ....	45
<b>TABELA 16:</b> NÚMERO E PERCENTAGEM DE AMOSTRAS QUE ULTRAPASSARAM O VALOR LIMITE PARA OS DIFERENTES PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS ANALISADOS EM CADA PISCINA.....	48
<b>TABELA 17:</b> RELAÇÃO ENTRE O TEOR DE CLORO RESIDUAL LIVRE E A UTILIZAÇÃO OU NÃO, NAS PISCINAS, DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA COMO TRATAMENTO COMPLEMENTAR DE DESINFECÇÃO. ....	52

## Lista de abreviaturas

BEA	Bilis Esculina Azida
CDC	Center for Disease Control
CNQ	Centro Nacional da Qualidade
DGS	Direção Geral da Saúde
DR	Diário da Republica
EUA	Estados Unidos da América
EN	European Norm
HPA	Health Protection Agency
ISO	International Standardization Organization
LSPA	Laboratório de Saúde Pública Aveiro
NP	Norma Portuguesa
NP EN	Versão Portuguesa de Norma Europeia
SMEWW	Standard methods for the examination of water and wastewater
SPSS	Software Statistical Package for the Social Sciences
UFC	Unidades formadoras de colónias
UV	Ultravioleta
VL	Valor Limite
VR	Valor Recomendado
WHO	World Health Organization

# 1. Introdução





---

## 1.1 Definição e caracterização das piscinas




A Diretiva do Concelho Nacional da Qualidade (CNQ) nº 23/93 define piscina como “uma parte ou um conjunto de constituições e instalações que inclua um ou mais tanques artificiais apetrechados para fins balneares e atividades recreativas, formativas ou desportivas aquáticas” (Diretiva CNQ nº 23/93, 1993).

As piscinas podem ser classificadas segundo os seguintes critérios (Diretiva CNQ nº 23/93, 1993; Circular Informativa nº 31/DA, 2009).

### **Ambiente ou tipologia**







-  coberta, instalação que inclui um ou mais tanques artificiais integrados numa construção coberta por uma estrutura fixa;
-  descoberta, instalação que inclui um ou mais tanques artificiais, para banhos, construídos ao ar livre;
-  combinada, inclui tanques ao ar livre e tanques cobertos, utilizáveis em simultâneo;
-  convertível, comporta um ou mais planos de água para banhos (tanques) cujos elementos da envolvente ambiental permitam desenvolver atividades ao ar livre ou em espaço coberto, em função das condições atmosféricas existentes.


### **Possíveis utilizadores**

-  particulares, construída apenas para a família do proprietário/explorador e convidados incluindo as situações de aluguer temporário para uso familiar, de acordo com a respetiva definição da NP EN 15288-1 2008;
-  semi-pública, oferece um serviço complementar à atividade principal de um estabelecimento (ex. piscina de hotel) e cujo uso é considerado “público”, de acordo com a respetiva definição da NP EN 15288-1 2008;
-  pública, a sua função é oferecer condições para a prática da natação e atividades de animação aquática correlacionadas (ex. piscinas municipais) e cujo uso é

considerado “público”, de acordo com a respetiva definição da NP EN 15288-1 2008.

### **Características morfológicas e funcionais do tanque**

-  tanques desportivos, respeitam todos os requisitos de construção e dimensão para a prática da natação e modalidades derivadas, no âmbito do treino e competição desportiva;
-  tanques de aprendizagem, apresentam as dimensões e funcionalidades adequadas para as atividades introdutórias e formativas das disciplinas natatórias, para o jogo, o recreio e a manutenção. A sua profundidade máxima é de 1,5 m e não deve apresentar em pelo menos 2/3 da sua superfície, profundidades superiores a 1,1 m;
-  tanques infantis ou chapinheiros, cumprem os requisitos funcionais e construtivos adequados à utilização autónoma por crianças até aos 6 anos de idade e dispõem de profundidades não superiores a 0,45 m, com o máximo de 0,2 m junto aos bordos;
-  tanques de recreio e diversão, apresentam características morfológicas e funcionais que os torna particularmente adequados para o recreio e diversão aquática, nomeadamente através de acessórios lúdicos tais como escorregas, cascatas, sistemas de formação de ondas, sistemas de produção de repuxos. As profundidades destes tanques serão inferiores a 1,3 m em pelo menos 2/3 da sua superfície, com o máximo de 2 m nas zonas mais profundas;
-  tanques polifuncionais ou polivalentes, apresentam soluções geométricas e construtivas que combinam características de diferentes tipologias de tanques ou dispõem de paredes e fundos moveis ou outros dispositivos que permitem a reconfiguração de áreas de forma a adapta-las para diferentes categorias de utentes e atividades, com exceção dos usos e vocações previstos exclusivamente para os chapinheiros;
-  tanques de hidromassagem (jacuzzi), equipados com jatos de ar subaquáticos que criam remoinhos;


 tanques terapêuticos, concebidos para prestação de cuidados médicos e de fisioterapia, sob supervisão e controlo de pessoas habilitadas para o efeito (as piscinas destinadas ao *fitness* e atividades correlacionadas não são consideradas piscinas terapêuticas).


## 1.2 Perigos associados à utilização de piscinas

A utilização das piscinas para fins recreativos está hoje em dia associada a vários benefícios para a saúde e bem-estar dos seus utilizadores, contudo, esta prática expõe os mesmos a perigos importantes para a saúde pública. Estes perigos podem ser físicos, químicos e biológicos.

### 1.2.1 Perigos físicos

Segundo Bernal e Cabello (2001) este tipo de perigos devem-se a anomalias existentes nas instalações ou ao mau uso das mesmas por parte do utilizador. Estes autores classificam estes tipos de acidentes, segundo a causa, em dois tipos:

 **lesões traumáticas:** podem ser provocadas por golpes, quedas ou resvalamentos, que podem dar origem a lesões leves, como pequenas escoriações ou cortes. Ou a traumatismos graves, como fraturas ou lesões da espinal medula, estas como consequência de mergulhos em zonas pouco profundas e desde grande altura;

 **acidentes por imersão:** podem ser provocadas por retenções subaquáticas, deficiente proteção do sistema de drenagem, inadequadas medidas de segurança e por mau uso por parte dos utilizadores etc.

O afogamento ou o quase afogamento é um dos efeitos adversos mais relevantes para a saúde resultante da utilização de piscinas, traduzindo-se numa percentagem considerável de acidentes fatais. A maioria dos estudos revela que no caso das crianças, está relacionado com a falta de vigilância por parte dos adultos. No caso dos adultos, o consumo de álcool é um dos fatores mais frequentemente associados a este tipo de acidentes (Pedroso e Nogueira, 2003; American Medical Association, 2004; WHO, 2006).

Para evitar este tipo de perigos, as piscinas públicas, quando são construídas devem cumprir todas as normas de segurança. De forma a combater possíveis falhas de regulamentação em relação ao tema, o Comité Europeu de Normalização, publicou em Março de 2009, a Norma EN 15288 parte 1 e 2, que veio estabelecer os requisitos de segurança para a conceção de piscinas e o seu funcionamento (Faria, 2009).

### 1.2.2 Perigos químicos

A contaminação química existente nas águas de piscina pode ter várias fontes, tais como, a água de abastecimento, os desinfetantes utilizados no tratamento da piscina e os banhistas (Figura 1).

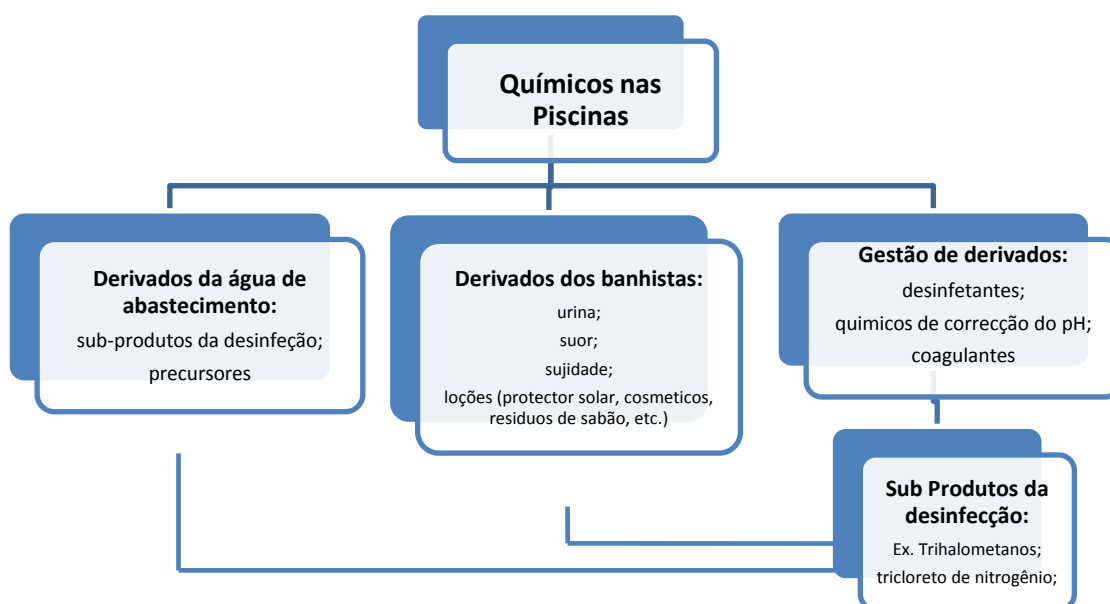



Figura 1: Possíveis contaminantes químicos da água de piscinas (WHO, 2006).

Segundo Pedroso e Nogueira (2003) e WHO (2006) são três as principais vias de exposição a substâncias químicas:

- ingestão direta da água (menos relevante para substâncias químicas voláteis apolares);
- inalação de solutos voláteis ou de aerossóis, esta via de exposição deve ser analisada medindo os seguintes parâmetros:
  - concentração da substância na água;
  - propriedades de transferência de massa;



- concentração no ar;
- tempo passado na área da piscina;
- atividade física (afeta a frequência respiratória);
- outros fatores.

 contacto dérmico e absorção através da pele, a exposição dérmica é a principal via de exposição e a sua gravidade depende:

- da área superficial do corpo;
- do tempo passado dentro de água;
- da concentração da substância química na água;
- da permeabilidade da pele.

A utilização de produtos químicos para a desinfecção da água de piscinas é fundamental, pois uma desinfecção inadequada ou inexistente pode potenciar graves problemas de saúde ao banhista (Esterman *et al.*, 1984; Lee *et al.*, 2009; Kanan e Karanfil, 2011; Font-Riviera *et al.*, 2010). São muitos os estudos recentes que alertam para a possibilidade destes químicos provocarem consequências graves, para a saúde dos banhistas e trabalhadores (Agabiti *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2007; Villanueva *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2009; Thomas e Murray, 2008; Bernard *et al.*, 2009; Richardson *et al.*, 2010; Font-Riviera *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2011).

Os desinfetantes químicos reagem com a matéria orgânica dando origem a subprodutos (Wang *et al.*, 2007; Panyakapo *et al.*, 2008; Marina *et al.*, 2009; Font-Riviera *et al.*, 2010; Richardson *et al.*, 2010; Kanan e Karanfil, 2011). As cloraminas são os mais conhecidos, contudo, não são os únicos compostos que se formam com a aplicação do cloro e seus derivados. São detetados entre muitos outros os trihalometanos (ex. o clorofórmio, que é um dos mais abundantes e potencialmente cancerígeno), ácidos haloacéticos e haloacetoneitrilo (Lee *et al.*, 2009; Legay *et al.*, 2010). A concentração destes subprodutos depende diretamente da concentração do desinfetante residual, da concentração de matéria orgânica, da temperatura da água e do tempo de contacto (Beleza *et al.*, 2007; Marina *et al.*, 2009). As principais vias de exposição a estes





subprodutos, nas piscinas, são a via dérmica e a via respiratória (Marina *et al.*, 2009; Kanan e Karanfil, 2011).

Os trihalometanos também têm sido detetados no ar interior de piscinas cobertas (Ribera *et al.*, 2010; Marina *et al.*, 2009). O seu transporte para o ar deve-se à grande volatilidade destes compostos, que sofrem vaporização a partir da água (Lee *et al.*, 2009). A concentração dos trihalometanos no ar, depende, da pressão de vapor da substância, da sua concentração na água, da sua solubilidade na água, da área de contacto entre a água da bacia e o ar (quanto maior for a área de contacto mais se favorece o transporte), da temperatura da água, da turbulência da água causada pelos banhistas e sobretudo da renovação do ar da piscina (Pedroso e Nogueira, 2003; Beleza *et al.*, 2007; Marina *et al.*, 2009).




Estudos recentes associam os trihalometanos, a diversos problemas de saúde, tais como, cancro de bexiga (Villanueva *et al.*, 2007), efeitos adversos na reprodução (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2000; Kanan e Karanfil, 2011) e problemas respiratórios (Bernard *et al.*, 2009; Marina *et al.*, 2009).




### 1.2.3 Perigos biológicos

A origem da contaminação biológica pode ser diversa, contudo, as fontes mais importantes são (Bernal e Cabello, 2001; Pedroso, 2005; Doménech-Sánchez *et al.*, 2008):

-  os banhistas;
-  a água de alimentação da piscina;
-  a poluição atmosférica (no caso de piscinas descobertas, por exemplo, folhas, insetos);
-  as próprias instalações (ex. paredes sujas).

O desenvolvimento de microrganismos na água de piscina é favorecido por vários fatores (Bernal e Cabello, 2001; Pedroso e Nogueira, 2003; Pedroso 2005; Rabi *et al.*, 2007):

-  número elevado de banhistas;
-  níveis de desinfetante na água baixos ou inexistentes;
-  deficiência na renovação da água e ar;

-  atmosfera húmida;
-  temperaturas elevadas;
-  utilização de materiais que podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos.

Os riscos de doença, associados à contaminação biológica da água de piscina são, na maioria dos casos, devido a contaminação de origem fecal. Este tipo de contaminação tem como principal fonte os banhistas, que acidentalmente libertam matéria fecal para a água. Contudo, a água de alimentação da bacia quando contaminada também pode ser uma fonte de contaminação. Apesar de muitos dos riscos estarem associados à contaminação fecal, a água também pode sofrer contaminações não fecais, como por exemplo, através da libertação de matéria orgânica humana de origem não fecal, como é o caso do suor, secreções das vias respiratórias, saliva, pele, que são fontes de organismos patogénicos não entéricos (Bernal e Cabello, 2001; Pedroso e Nogueira, 2003; WHO, 2006; Beleza *et al.*, 2007; Rabi *et al.*, 2007; Cappello, 2010).






A contaminação biológica não fecal é uma fonte potencial de microrganismos patogénicos podendo estes infetar diretamente e com facilidade, tanto a água da piscina como as suas superfícies e materiais. Algumas bactérias, a maioria bactérias de origem não fecal, podem-se acumular em biofilmes e representarem um risco de infeção. Existem ainda, bactérias e amebas que podem crescer na água de piscina, em equipamentos presentes nesta (como sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado) e noutras superfícies húmidas que podem provocar uma variedade de doenças respiratórias, dérmicas ou doenças e infeções do sistema nervoso central (WHO, 2006).

A WHO no guia “*Guidelines for safe recreational water environments* (WHO, 2006) considera como agentes biológicos que podem representar perigo em água de piscina, vários microrganismos (Tabela 1):


Tabela 1: Agentes biológicos que podem representar perigo em piscinas ou ambientes similares (WHO, 2006).







Origem da contaminação	Agentes biológicos			
	Vírus	Bactérias	Protozoários	Fungos
<b>Fecal</b>	Adenovírus	<i>Shigella</i> spp.	<i>Giardia</i>	
	Vírus da hepatite A	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Cryptosporidium</i>	
	Norovírus			
	Enterovírus			
<b>Não fecal</b>	Molluscipoxvírus	<i>Legionella</i> spp.	<i>Naegleria fowleri</i>	<i>Trichophyton</i> spp.
	Papilloma vírus	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Acanthamoeba</i> spp.	<i>Epidermophyton floccosum</i>
	Adenovírus	<i>Mycobacterium</i> spp.	<i>Plasmodium</i> spp.	
		<i>Staphylococcus aureus</i>		
		<i>Leptospira</i> spp.		

São diversas as doenças associadas à exposição a estes agentes biológicos através da utilização de piscinas mas, os mais problemáticos, são (Beleza *et al.*, 2007):

-  **doenças cutâneo-mucosas** provocadas, na maioria dos casos, por espécies de estafilococos, estreptococos, micobactérias e dermatófitos. A mais comum, neste grupo é a epidermofitose do pé, vulgarmente conhecida por “pé de atleta”, provocada por várias espécies de fungos e que é contraída na maioria das vezes pelo contacto com o pavimento molhado envolvente da piscina;
-  **doenças respiratórias**, as amigdalites e as sinusites são as mais comuns. Os agentes infecciosos são vários, nomeadamente a *Legionella* spp e o *Aspergillus*;
-  **conjuntivites e otites**, estas são geralmente provocadas por vírus ou por bactérias como *Pseudomonas* ou *Leptospiras*;
-  **doenças gastrointestinais** originadas, entre outras, por espécies de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Entamoeba histolytica*, *Yersinia*, vírus da Hepatite A e por Rotavírus;
-  **meningo-encefalites** relacionadas frequentemente por espécies de *Naegleria*.

Para combater estes riscos devem ser aplicadas medidas, tais como (Pedroso e Nogueira, 2003; Beleza *et al.*, 2007):

-  **desinfecção da água** (aplicação adequada de cloro ou de outros agentes desinfetantes, a massa de água deve, no caso da utilização de cloro, manter um residual de 1,0 mgL<sup>-1</sup>);

-  lavagem frequente dos filtros em contra-corrente;
-  limpeza e desinfecção frequente dos sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado;
-  informação dos banhistas, para que tenham consciência, que são o principal veículo de contaminação, para que adotem comportamentos preventivos;
-  limpeza e controlo frequente da superfície de certos equipamentos da piscina;
-  imposição de uso de calçado adequado nos balneários e nos vestiários;
-  proibição do acesso direto de animais às piscinas e sensibilização dos banhistas para os perigos de utilização de águas acessíveis à contaminação por animais.

Na água das piscinas, as temperaturas mais altas, favorecem o aumento de microrganismos (Rabi *et al.*, 2007). Segundo Beleza *et al.* (2007) “ajustando corretamente a concentração de desinfetante à temperatura, pode-se garantir o mesmo, ou maior, grau de proteção tanto a 26°C como a 34°C”. Contudo, o aumento da temperatura pode levar à formação de compostos indesejáveis, na água de piscina, por reação do agente desinfetante com compostos azotados ou matéria orgânica, favorecendo o transporte para o ar de substâncias muito agressivas e que podem afetar de forma grave a saúde dos banhistas e dos trabalhadores das piscinas (Agabiti *et al.*, 2001; Beleza *et al.*, 2007).

### **1.3 Tratamento da água de piscinas**

O tratamento da água de piscinas, é essencial, pois permite minimizar os perigos associados à sua utilização. Controlando a qualidade da água prevenimos a transmissão de muitas doenças e os potenciais perigos inerentes aos subprodutos que se formam ao longo do processo de desinfecção.

Para garantir a qualidade da água de uma piscina esta deve ser continuamente reciclada, tratada e devolvida ao tanque de natação (Figura 2). A qualidade da água depende principalmente da filtração e da desinfecção (Thacker e Nitnaware, 2003; Beleza *et al.*, 2007; Doménech-Sánchez *et al.*, 2008).

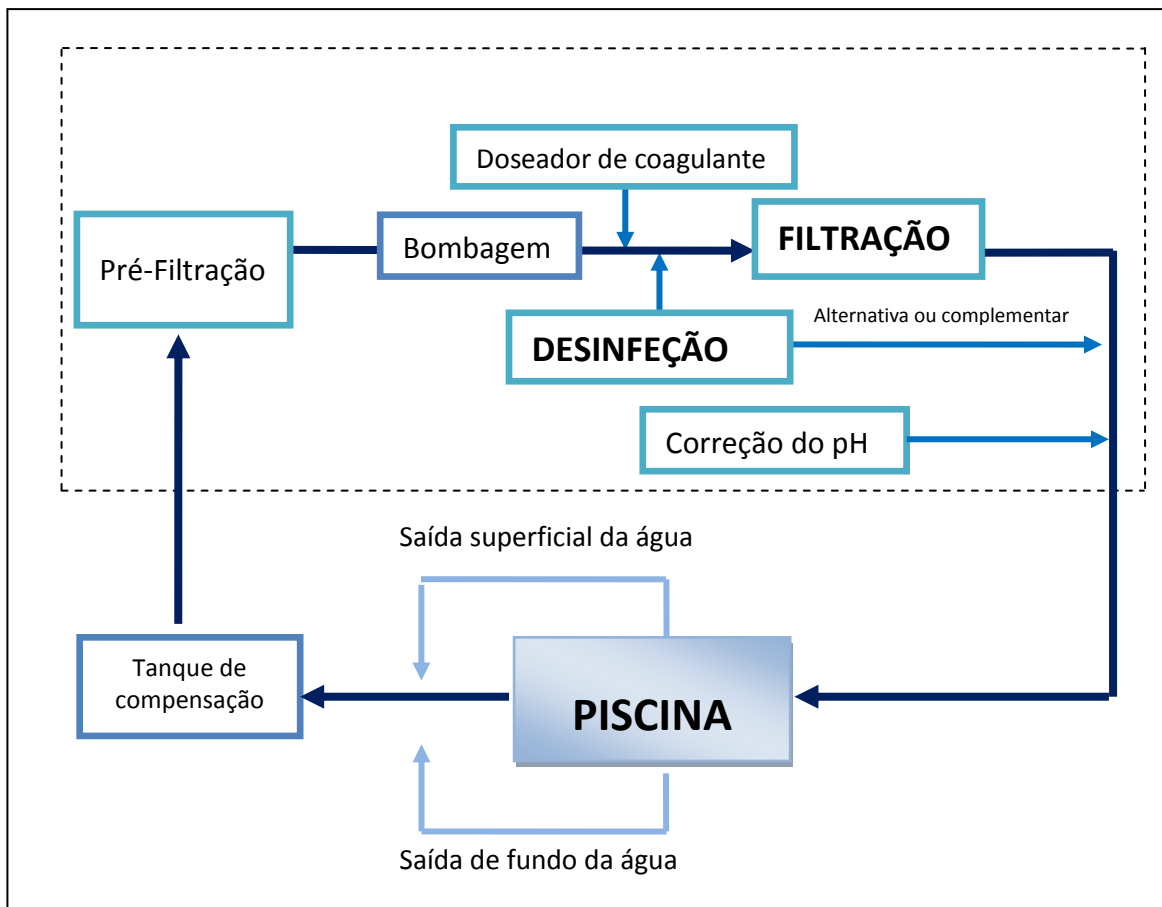


Figura 2: Esquema de tratamento numa piscina (WHO, 2006).

### 1.3.1 Circulação da Água

A circulação consiste na recolha de água no tanque que é tratada e devolvida de novo à piscina.

Segundo a Diretiva CNQ nº 23/93, “as instalações de recirculação e tratamento de água devem ser dimensionadas para fornecer, a todo o momento e a cada tanque que alimentam, um caudal de água filtrada e desinfetada de qualidade...”. Assim, o caudal de recirculação mínimo vai depender da capacidade do tanque e da profundidade média do mesmo, do sistema de tratamento utilizado na piscina e do número de banhistas por m<sup>3</sup> (Diretiva CNQ nº 23/93, 1993).

### 1.3.2 Água de compensação

A água de compensação é a água necessária para compensar as perdas por evaporação, por lavagem dos filtros, com os banhistas e pelo despejo que é efetuado para garantir uma renovação mínima da água da piscina (Beleza *et al.*, 2007).

A reposição diária da água deve ser, na proporção mínima de 30 litros dia/banhista, no mínimo absoluto de 2% do volume do tanque, podendo as autoridades de saúde, se acharem necessário, impor um volume mínimo de reposição diária de água nova equivalente a 5% do volume da piscina (Diretiva CNQ nº 23/93, 1993).

O tanque de compensação permite a recolha contínua da água que transborda do tanque de natação, devendo ser instalado num local isolado da luz solar, de fácil acesso para limpeza e a um nível inferior ao do plano de água do tanque de natação. Este deve ter a capacidade para recolher o volume de água deslocada pelos banhistas, 80L/banhista, manter o caudal de recirculação e reter o volume de água suficiente para a lavagem de pelo menos um filtro (Diretiva CNQ nº 23/93, 1993; Beleza *et al.*, 2007; Esteves e Pacheco, 2009).

### 1.3.3 Clarificação da água

A clarificação da água consiste numa pré-filtração, seguida de filtração que pode ou não ser melhorada adotando um processo de coagulação/floculação.

A pré-filtração permite eliminar os detritos da água com dimensões superiores a 2 mm, protegendo desta forma os impulsores das bombas, a tubagem e os filtros (Beleza *et al.*, 2007).

A coagulação e floculação são processos de tratamento da água que permitem remover pequenas impurezas não solúveis na água (coloides ou partículas coloidais) para posteriormente decantar ou para ficarem retidas no filtro de areia. A coagulação permite remover, por exemplo, os oocistos e cistos de *Cryptosporidium* e de *Giardia*. O sucesso deste tratamento depende muito do valor de pH da água (Diegues e Martins, 2006; WHO, 2006).






A filtração é o processo da clarificação determinante para a qualidade da água de uma piscina, pois uma má filtração, pressupõe uma água turva, difícil de desinfetar e obriga a um aumento das quantidades de desinfetante, provocando incômodos e riscos para todos aqueles que frequentam a piscina (Bernal e Cabello, 2001; Beleza *et al.*, 2007; Doménech-Sánchez *et al.*, 2008).

Consiste na passagem da água através de um material poroso e permeável que retém partículas, incluindo microrganismos em suspensão. Os meios filtrantes atuam retendo de forma mecânica as partículas e absorvendo a matéria coloidal. Os meios filtrantes utilizados tradicionalmente são a areia, a antracite e a diatomite (Bernal e Cabello, 2001; Esteves e Pacheco, 2009). O material filtrante mais usado é a areia, contudo, em casos de filtração de água quente ou com pH elevado, é preferível o uso de antracite, pois esta permite períodos maiores de filtração, maiores velocidades de filtração e um menor consumo de água de lavagem. Uma água filtrada por uma camada dupla de areia e de antracite é na maioria dos casos de melhor qualidade do que a obtida com um leito de areia (Beleza *et al.*, 2007).


A frequência de lavagem do filtro depende da colmatação do mesmo, contudo, em piscinas públicas aconselha-se uma lavagem, no mínimo, de uma vez por dia.

#### **1.3.4 Desinfecção de água de piscina**

A desinfecção da água das piscinas é essencial para evitar o crescimento de microrganismos patogénicos e prevenir possíveis surtos de doenças infecciosas (Kanan e Karanfil, 2011; Liviak *et al.*, 2010; Ribera *et al.*, 2010). Na escolha e aplicação do desinfetante deve-se ter em atenção que (Pedroso e Nogueira 2003; Queensland Government, 2004; Diegues e Martins, 2006; WHO, 2006):

-  deve ser seguro (do ponto de vista da saúde ocupacional);
-  compatível com o tipo de água (deve-se ter em atenção o pH da água);
-  tipo e tamanho da piscina (o desinfetante pode ser rapidamente degradado ou perdido para o exterior por evaporação como no caso das piscinas ao ar livre);
-  capacidade de manter na água uma concentração residual após a sua aplicação;
-  número de banhistas na piscina, banhista/m<sup>2</sup>;








 operação da piscina (capacidade do responsável em resolver problemas técnicos).

Os principais desinfetantes usados em piscinas são o cloro, o bromo, o ozono e a radiação ultravioleta.

#### **1.3.4.1 Cloro**

O cloro apresenta atividade oxidante e bactericida, é o desinfetante mais utilizado no tratamento da água de piscina (Nemery *et al.*, 2002; Thacker e Nitnaware, 2003; Lee *et al.*, 2009; Bernard *et al.*, 2009; Kogevinas *et al.*, 2010; Ribera *et al.*, 2010) e o mais barato (Queensland Government, 2004; Panyakapo *et al.*, 2008), utilizando-se na forma de gás cloro, sais de hipoclorito (sódio, cálcio e lítio), ou isocianuratos de cloro (Diegues e Martins, 2006).

Segundo Pedroso e Nogueira (2003) o gasto de cloro na desinfecção das águas de piscina depende dos vários fatores:

-  tipo de piscina, coberta ou descoberta;
-  temperatura da água da piscina, o aumento de 1°C equivale a um acréscimo de 15 a 20% da concentração de cloro necessária para a desinfecção;
-  radiação solar, a ação dos raios ultravioleta transforma o cloro em iões inativos, tornando difícil a manutenção correta de cloro em piscinas ao ar livre, podem ser usados estabilizadores de cloro para ultrapassar esta dificuldade;
-  uso ou não de produtos clorados estabilizados;
-  qualidade da filtração

O cloro gasoso é um gás verde amarelo, irritante e tóxico. Este pode ser condensado, por aumento de pressão, permitindo o seu fornecimento no estado líquido. Apesar de ser o mais barato o seu uso é raro, por provocar a redução do pH da água (o que obriga a um consumo suplementar de uma base de neutralização). Por ser um químico fortemente irritante do sistema respiratório torna-se muito perigoso, tendo já sido desaconselhado, em vários países, o seu uso pelo risco de causar acidentes (Agabiti *et al.*, 2001; Pedroso e Nogueira, 2003; Beleza *et al.*, 2007).

O hipoclorito de sódio, aumenta quase instantaneamente a concentração de cloro no tanque, sendo considerado muito bom para tratamentos de choque. É um produto barato, que tem como desvantagem, ser muito corrosivo e cáustico (provocando problemas na manutenção), tem um tempo de vida em contentor reduzido e a sua adição provoca o aumento do pH e dos teores de cloretos e de sódio na água (Bernal e Cabello, 2001; Queensland Government, 2004). Nas piscinas ao ar livre as perdas de cloro são elevadas, quer para a atmosfera, quer pela degradação provocada pela radiação ultra-violeta. Para prevenir esta situação efetua-se a complementação da cloração habitual introduzindo ácido isocianurico para estabilizar o cloro (Beleza *et al.*, 2007).

O cloro, em qualquer das suas formas, ao ser adicionada na água dá origem ao ácido hipocloroso (HOCl), dissociando-se na água no ião de hidrogénio (H<sup>+</sup>) e no ião Hipoclorito (OCl<sup>-</sup>), segundo a seguinte reação:  $\text{HOCl} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{OCl}^-$

O grau de dissociação depende do pH e em menor escala da temperatura (Nemery *et al.*, 2002; Pedroso e Nogueira, 2003; WHO, 2006; Lee *et al.*, 2009). Com valores de pH inferiores a 6 existe uma fraca dissociação, sendo a dissociação quase completa a valores de pH entre 6,5 e 8,5. É assim extremamente importante controlar o pH para assegurar uma boa desinfeção da água através da adição de cloro (Pedroso e Nogueira, 2003; WHO, 2006).

Para determinar a eficiência da desinfeção é necessário fazer a quantificação do cloro residual livre e total, bem como o pH. Para determinar o cloro residual livre quantifica-se o ácido hipoclorito mais o ião de hipoclorito (Queensland Government, 2004; WHO, 2006). Em Portugal recomendam-se um cloro residual livre entre 0,5 a 1,2 mg/l quando o pH se encontra entre 6,9 e 7,4 ou um cloro residual livre de 1 a 2 mg/l para um pH entre 7,5 e 8 (Circular Normativa 14/DA).

#### **1.3.4.2 Bromo**

O bromo dissolve-se na água mais facilmente, três vezes melhor que o cloro, contudo, a sua atividade na água é curta. É considerado um desinfetante fraco quando comparado com o cloro, pois necessita de uma concentração superior à do cloro em 50 a 60 %, para obter o mesmo efeito desinfetante (Queensland Government, 2004; Diegues e

Martins, 2006). A sua utilização como desinfetante de água é semelhante à de cloro, contudo, os valores residuais de bromo livre são mais elevados, 2 a 4 mg/l Br<sub>2</sub> (Beleza *et al.*, 2007).

O bromo não pode ser utilizado em tratamentos de choque, pois não oxida a amónia e os compostos azotados. A sua utilização está mais indicada para piscinas cobertas, sendo ele menos estável que o cloro quando sujeito à radiação UV, perdendo parte das suas propriedades (Queensland Government, 2004; Diegues e Martins, 2006).

#### **1.3.4.3 Ozono**

Segundo Diegues e Martins (2006) é o oxidante e agente de desinfeção mais poderoso, não deixando resíduos na água. Como desaparece rapidamente na água não pode ser usado como desinfetante isolado, mas sim em combinação com o cloro ou o bromo. Nestes casos, são necessárias apenas pequenas dosagens de cloro e de bromo para alcançar apenas o valor de residual recomendado. O governo de Queensland em 2004, contudo, afirma que o bromo nunca deve ser usado em conjunto com o ozono, uma vez que esta associação leva à formação de compostos potencialmente cancerígenos.

O uso de ozono tem três grandes vantagens, ter propriedades excelentes como desinfetante, oxidar completamente a grande maioria dos contaminantes orgânicos e não produzir subprodutos prejudiciais para a saúde. Contudo, a sua utilização apresenta quatro grandes desvantagens, o custo elevado (quando comparado com os compostos de cloro), não garantir os residuais necessários numa água de piscina (devido à sua instabilidade), produzir na presença de derivados do cloro o ião cloreto e a sua toxicidade (a água à chegada do tanque de natação não pode ter ozono, sendo necessário usar outro desinfetante para conferir o valor residual de desinfetante necessário à água de piscina) (Bernal e Cabello, 2001; Beleza *et al.*, 2007).

#### **1.3.4.4 Radiação ultravioleta**







A radiação ultravioleta (200 a 300 nm) é um processo físico que permite tratar a água de recirculação das piscinas sem deixar um resíduo desinfetante. Quebra as cadeias

moleculares de alguns poluentes e inativa os microrganismos (Diegues e Martins, 2006). Torna a água da piscina, para os banhistas, menos irritante e mais saudável, uma vez que reduz odores, sabores e a concentração de cloraminas. Obriga, contudo, à utilização de outro agente desinfetante, tornando o tratamento mais caro mas muito mais benéfico para os utilizadores (Beleza *et al.*, 2007).

#### **1.4 Avaliação da qualidade da água de piscinas**

É praticamente impossível fazer a identificação de todos os microrganismos patogénicos presentes numa água através da sua análise, pois os métodos de deteção e identificação dos mesmos são complexos, caros, exigem um elevado grau de especialização dos operadores e não estão disponíveis para todos os microrganismos. Para além disso, é necessário saber o que procuramos de forma a obtermos resultados em tempo útil. Assim, a avaliação da qualidade microbiológica da água baseia-se na pesquisa de organismos indicadores e de alguns microrganismos patogénicos (Barrell *et al.*, 2000; Ashbolt *et al.*, 2001; Briancesco, 2005; Cappello, 2011)

A escolha dos microrganismos indicadores que permitam realizar a monitorização dos potenciais perigos microbianos deve respeitar os seguintes critérios (Mendes e Oliveira, 2004; WHO, 2006):

-  estejam ausentes em ambientes não poluídos e presentes quando a fonte de patogenicidade está presente (por exemplo, material fecal);
-  não se multipliquem no meio ambiente;
-  estejam presentes em maior número em relação aos microrganismos patogénicos;
-  respondam às condições ambientais naturais e processos de tratamento de água de forma semelhante aos patogénicos de interesse;
-  sejam fáceis de isolar, identificar e enumerar;
-  a identificação deve ser rápida e barata.

A ausência de microrganismos indicadores, no entanto, não garante segurança, uma vez que alguns patogénicos são mais resistentes ao tratamento que os indicadores. Não existe nenhum organismo indicador perfeito. Assim sendo, na monitorização da

qualidade da água das piscinas são também pesquisados alguns microrganismos patogénicos, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Legionella* spp (WHO, 2006).

### **1.4.1 Microrganismos indicadores e patogénicos pesquisados em águas de piscina**

#### **1.4.1.1 Microrganismos indicadores**

Os microrganismos mais usados para avaliar a contaminação de águas em piscinas são os microrganismos cultiváveis a 37°C, as bactérias coliformes, os coliformes fecais e *E. coli*.

#### **Microrganismos cultiváveis a 37°C**

São microrganismos mesófilos aeróbicos que crescem em condições laboratoriais. Apesar de terem pouco significado como indicadores de poluição de origem fecal, a contagem de microrganismos a 37°C permite avaliar a variação do teor de microrganismos presentes na água, sendo a temperatura o factor que mais controla a variação do teor deste grupo de bactérias nas piscinas (Mendes e Oliveira, 2004; WHO, 2006). São usados como indicadores das condições de higienização das paredes e canalizações da piscina, bem como da “sujidade” trazida pelos banhistas (Pina, 1998). Permitem, também, controlar a eficiência do sistema de tratamento da água de piscina (Cappello, 2011).

#### **Bactérias coliformes**

São bacilos Gram-negativos, não esporulados, oxidase negativos, que crescem aerobicamente na presença de sais biliares, e fermentam a lactose a 37°C (Mendes e Oliveira, 2004). Tal como os microrganismos a 37°C não são bons indicadores de contaminação fecal, uma vez que nem todos têm origem fecal. A sua presença alerta, contudo, para a existência de possíveis focos de contaminação como secreções nasais, expetoração, fezes, urina e solo (Pina, 1998).

O uso de bactérias coliformes para avaliar a contaminação bacteriológica das águas de piscinas tem muitos benefícios, contudo, no que diz respeito à sua precisão, apresenta três limitações, a primeira deve-se à sua rápida capacidade de multiplicação, em águas poluídas, podendo prestar falsas informações em relação ao tempo a que a contaminação ocorreu. A segunda limitação deve-se à possibilidade, na presença de determinadas espécies de *Pseudomonas* e invasores secundários, de surgirem falsos negativos. A terceira limitação é pelo facto das bactérias coliformes serem facilmente destruídas e inativadas pelo cloro, não sendo assim, um bom indicador de microrganismos resistentes ao cloro (Cappello, 2011).

### **Coliformes fecais/*Escherichia coli***

Os coliformes fecais fermentam a lactose e produzem gás e ácido à temperatura de  $44 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  em 24-48 horas. A *E. coli* pertence a este grupo e caracteriza-se também por produzir indol, em água peptona contendo triptofano, por ser incapaz de usar citrato como única fonte de carbono e por produzir acetil-metil-carbinol (Mendes e Oliveira, 2004; Briancesco, 2005). Os coliformes fecais, que incluem a *E. coli* pertencem à família das Enterobacteriaceae, constituída por bacilos Gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, imóveis ou móveis, fermentadores da glucose e oxidase negativos. A identificação é feita habitualmente através de testes bioquímicos (Sousa, 2000).

A utilização de organismos coliformes fecais como grupo indicador de contaminação fecal na água deve-se ao facto de estes se encontrarem presentes no intestino e nas fezes de animais de sangue quente em maior número que as bactérias patogénicas e não se multiplicar no ambiente (Isaac-Marquez *et al.*, 1994). A pesquisa de indicadores de contaminação fecal, em análises de rotina de águas de piscina é importante e permite identificar contaminações recentes (Salvato *et al.*, 2003).

Como patogénico, a *E. coli* está associado a diversas infeções sejam elas intestinais (desenvolvimento de gastroenterites) quer extra-intestinais (urinárias, genitais, hepatobiliares, meningites de recém-nascidos, septicemias) e como habitante do trato intestinal dos mamíferos, a sua presença em água indica poluição fecal (Sousa 2000; Mendes e Oliveira 2004; Briancesco, 2005; Doménech-Sánchez *et al.*, 2008; Verma *et al.*,

2007). Um estudo publicado em 2007, realizado por Verma *et al.* (2007) associa a transmissão de *E. coli* O157 a águas de piscina (Verma *et al.*, 2007).

## **Enterococos**

Os estreptococos são bactérias Gram positivas, catalase negativas, anaeróbias facultativas, esféricas ou ovóides com menos de 2 µm de diâmetro (Costa, 2000). Têm capacidade para crescer a 10°C e 45°C, a pH 9.6, em meios de cultura contendo cloreto de sódio a 6.5%. Hidrolisam a esculina na presença de 40% de sais biliares (Costa, 2000; Mendes e Oliveira, 2004; Briancesco, 2005; Cabral, 2010).

Tal como os coliformes fecais, os Enterococos estão presentes habitualmente no aparelho digestivo e urinário dos organismos de sangue quente, reconhecendo-se a sua importância como indicador de contaminação fecal nas águas. Descobertas recentes revelaram a capacidade que estes organismos têm de resistir a condições adversas, tais como temperaturas relativamente elevadas, crescimento num meio com presença de sal e pH elevado. Sendo um bom indicador de poluição remota é um dos microrganismos mais importantes como indicador da qualidade microbiológica em água salgada (Costa, 2000; Ashbolt *et al.*, 2001; Mendes e Oliveira, 2004).

Devido à sua natural resistência a antibióticos os enterococos têm-se tornado ao longo dos anos agentes de infeções hospitalares em doentes sujeitos a tratamentos prolongados com antibióticos de largo espetro são uma causa frequente de infeções urinárias (Costa, 2000).

### **1.4.1.2 Microrganismos patogénicos**

Os microrganismos patogénicos mais pesquisados em águas de piscina são *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus* (estafilococos coagulase positiva e estafilococos coagulase negativa).

#### ***Pseudomonas aeruginosa***

As *Pseudomonas* são bactérias em forma de bastonetes direitos ou ligeiramente curvos, Gram negativas, com um ou vários flagelos polares (Correia, 2000). Este género é

formado por 70 ou mais espécies pertencentes a grupos homólogos no que respeita à estrutura do RNA ribossomal, distinguindo-se um subgrupo que não sintetiza o poli- $\beta$ -hidroxibutirato e produz um pigmento aquossolúvel que é fluorescente sob radiação ultravioleta, nomeadamente as espécies *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* e *P. syringae* (Correia, 2000; Mendes e Oliveira, 2004).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* produz piocianina, um pigmento azul fluorescente sob radiação ultravioleta 360  $\pm$  20 nm, apresenta um único flagelo polar, crescem até 42°C, e desnitrifica, é oxidase positiva e hidrolisa a caseína (Mendes e Oliveira, 2004). É facilmente isolada no solo e na água onde vive livremente como saprófita, embora em certas circunstâncias se possa assumir como um patógeno oportunista (Correia 2000).

Está associado a várias patologias no homem, provocando nos utilizadores de piscinas, infeções no sistema auditivo (Weingarten, 1977), folliculitis, infeções do trato urinário e respiratório e lesões na córnea (Tate *et al.*, 2003; Martin *et al.*, 2003; Nicolau e Oliver, 2010; Lutz e Lee, 2011). A sua presença é comum em piscinas (Price e Ahearn 1998). A Diretoria de Saúde Ambiental, da Austrália em 2007 publicou um folheto informativo onde associa a presença de *Pseudomonas aeruginosa* ao aparecimento de, otites externas (Diretoria de Saúde Ambiental, 2007). São muitos os casos estudados de infeções hospitalares provocados por este organismo que se têm tornado resistentes aos antibióticos, bem como as complicações provocadas pela sua presença em pacientes com fibrose cística (Correia, 2000; Arruda, 1998; Filho *et al.*, 2001)

### ***Staphylococcus***

Os *Staphylococcus* são bactérias Gram-positivas em forma de cocos, anaeróbias facultativas, catalase positivas, coagulase positiva ou negativa, fermentadoras da glucose. Este género inclui bactérias responsáveis por diversas doenças no homem. Taxonomicamente, este grupo está dividido em estafilococos coagulase positiva e estafilococos coagulase negativa (Mendes e Oliveira, 2004).

Segundo Cristino (2000), “os estafilococos são microrganismos que, muito frequentemente, adquirem resistências aos antimicrobianos e as transmitem entre si”.



Estirpes de estafilococos resistentes à meticilina têm sido, desde a década de 80, associadas a surtos epidémicos a nível hospitalar (Cristino, 2000). Tendo sido já identificada a sua presença em águas de piscina (Papadopoulou *et al.*, 2008; Tolba *et al.*, 2008)

A presença de *Staphylococcus* nas águas de piscina é um bom indicador de contaminação não fecal uma vez que a grande maioria tem origem em feridas da pele, secreções nasais, expetoração, urina e ouvidos inflamados (Pina, 1998; WHO, 2006). Quando estão presentes na água de piscina podem originar rinofaringites, anginas, otites, conjuntivites e ainda infeções de pele (Beleza *et al.*, 2007).

## **1.5 Legislação utilizada para avaliar a qualidade da água em piscinas**

A análise microbiológica da água é utilizada em todo o mundo para monitorizar e controlar a qualidade e segurança dos vários tipos de água (Barrell *et al.*, 2000).

### **1.5.1 Legislação utilizadas a nível nacional**


Apesar de serem diversos os perigos associados à utilização de piscinas, nem a qualidade da água nem a especificação das condições de instalação e funcionamento das piscinas (à exceção das incluídas em recintos com diversões aquáticas e das destinadas à hidroterapia) são objeto de regulamentação em Portugal (Circular Informativa 31/DA, 2009).


A Diretiva CNQ nº 23/93 de 1993, veio fixar, “com carácter geral, as disposições de segurança, higieno-sanitárias, técnicas e funcionais, que devem ser observadas nas piscinas e nos estabelecimentos dedicados a atividades recreativas aquáticas correlacionadas, de uso público”. Esta diretiva serviu como base para o estabelecimento das normas técnicas aprovadas para os Recintos com Diversões Aquáticas/Parques Aquáticos através do Decreto Regulamentar nº 5/97, de 31 de Março de 1997.

Em 2006 a WHO publicou o “*Guidelines for recreational water environments, Volume 2: swimming pools and similar environments*” onde apresenta uma revisão exaustiva dos perigos e riscos para a saúde associados a águas recreativas de piscinas e a sua avaliação assim como dos procedimentos relativos à monitorização, controlo e gestão (Circular

Informativa nº 31/DA, 2009). Apesar de ser um documento técnico importante, tal como a Diretiva CNQ nº 23/93, não tem carácter legal.

Para combater este vazio legislativo a Direcção Geral de Saúde publicou, a 21 de Agosto de 2009, a Circular Normativa 14/DA onde é estabelecido um programa de vigilância sanitária para piscinas. Esta surge com a necessidade de minimizar os diversos perigos associados à utilização de piscinas, tendo como objetivos gerais:

 uniformizar procedimentos relativos à vigilância sanitária de piscinas, a adotar pelos serviços de saúde pública, apresentando esquematicamente as várias acções a empreender no âmbito desse programa;

 indicar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos a analisar, os valores de referencia máximos e as técnicas de amostragem no âmbito das acções de monitorização da qualidade da água e do ar, quando necessário.

Este programa só abrange piscinas públicas, semi-públicas e de hidroterapia e com fins terapêuticos, sejam de água doce ou salgada, cobertas ou descobertas.

Os parâmetros microbiológicos e físico-químicos a pesquisar na água, expressão dos resultados, métodos analíticos, os valores de referência e a periodicidade de amostragens que o programa de vigilância sanitária das piscinas estabelece encontram-se resumidos na Tabela 2 e 3, respetivamente.

**Tabela 2: Parâmetros microbiológicos a analisar, no âmbito do programa de vigilância sanitária de piscinas.**

Parâmetros microbiológicos	Expressão de resultados	Métodos Analíticos	Valores de referência		Periodicidade das Análises
			VR	VL	
Microrganismos cultiváveis a 37°C-24h	UFC/ mL	ISO 6222	≤100*	-	Mensal
Bactérias coliformes	UFC/ 100mL	ISO 9308-1 modificada	0	10	
<i>Escherichia coli</i>	UFC/ 100mL	ISO 9308-1 modificada	-	0	
Enterococos	UFC/ 100mL	ISO 7899-2	-	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UFC/ 100 mL	ISO 12780 modificada	-	0	
Estafilococos produtores de coagulase	UFC/ 100 mL	NP-4343	-	0**	
N.º total de estafilococos	UFC/ 100 mL	NP-4343	≤20*	-	Trimestral
Legionella***	Nº/ 1000 mL	ISO 11731:1998	1		

VR – Valor Recomendado; VL – Valor Limite

\* O Valor Recomendado poderá ser ultrapassado uma vez por época de abertura ao público ou por ano civil.

\*\* 0/100 mL em 90% das amostras.

\*\*\* Em tanques de hidromassagem.

<sup>1</sup> A interpretação dos resultados obtidos depende dos teores de *Legionella* spp e *Legionella pneumophila* encontrados.

**Tabela 3: Parâmetros físico-químicos a analisar, em piscinas com água doce, água do mar ou eletrólise salina, no âmbito do programa de vigilância sanitária de piscinas.**

Parâmetros físico-químicos	Expressão de resultados	Métodos Analíticos	Valores Indicativos	Periodicidade das Análises
<b>Cloro</b>	<b>Cloro Total</b>	mg/l Cl <sub>2</sub>	Colorimetria	Igual ao máximo de cloro livre + 0,5 mg/l (1,0 - 2,5)
	<b>Cloro livre</b>	mg/l Cl <sub>2</sub>	Colorimetria	0,5 – 1,2 (6,9 > pH ≤ 7,4)
				1,0 – 2,0 (7,5 > pH ≤ 8,0)
	<b>Cloro combinado</b>	mg/l Cl <sub>2</sub>	Cálculo	0,8 – 2,0
<b>Bromo</b>	<b>Bromo total</b>	mg/l Br <sub>2</sub>	Colorimetria	2,0 – 4,0
	<b>Cobre</b>	mg/l Cu	Espetrometria atômica (ou de absorção molecular)	2,0
	<b>Turvação</b>	UNT	Turbidimetria	0,5 — 4,0
	<b>pH</b>	Escala Sorënsen a 25°C	Eletrometria	6,9 - 8,0
	<b>Condutividade</b>	µS/cm a 20°C	Eletrometria	1500*
	<b>Cloretos</b>	mg/l Cl <sup>-</sup>	Volumetria ou Eletrometria	500*
	<b>Oxidabilidade em meio ácido ou</b>	mg/l O <sub>2</sub>	Oxidação (volumetria)	6*
	<b>Carbono orgânico total (COT)</b>	mg C	Combustão e IV	6*
	<b>Temperatura da água (em piscinas cobertas)</b>	°C	—	Para piscinas cobertas: ≤ 30°C
	<b>Trihalometanos (em piscinas cobertas)</b>	µg/l	Cromatografia gasosa	Trihalometanos totais: 100

**Trimestral**

\* Nas piscinas com água do mar ou eletrólise salina, não estão previstos valores indicativos.

### 1.5.2 Legislação utilizadas a nível internacional

Em 2006 a WHO no seu “*Guidelines for recreational water environments, Volume 2: swimming pools and similar environments*”, recomenda como parâmetros a pesquisar nas amostras de rotina, em águas de piscinas públicas e semi-públicas os parâmetros descritos na Tabela 4. Este guia não recomenda a monitorização, por rotina, de

*Staphylococcus aureus*, contudo, refere que a pesquisa destes pode fazer parte de um programa de investigação sobre a qualidade da água, recomendando níveis de *Staphylococcus aureus* inferiores a 100 UFC/100mL.

**Tabela 4: Parâmetros microbiológicos a pesquisar nas águas de piscinas públicas e semi-públicas, expressão dos resultados, valores de referência e periodicidade das análises (WHO, 2006).**

Parâmetros microbiológicos	Expressão de resultados	Valores de referência	Periodicidade das Análises
Contagem em placa de heterotróficos	UFC/ mL	<200	Semanal
Coliformes termotolerantes/ <i>E. coli</i>	UFC/ 100mL	<1	Semanal
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UFC/ 100mL	<1	Quando a situação exigir *
<i>Legionella</i> spp	UFC/ 100mL	<1	Trimestral

\*Por exemplo, quando existirem suspeitas de problemas de saúde associados às piscinas.

No Reino Unido, de acordo com o Código de Prática BSI PAS 39:2003, que estabelece os padrões de qualidade microbiológica de águas de piscina, os parâmetros a pesquisar mensalmente, são apresentados na Tabela 5 (Health Protection Agency (HPA), 2005):

**Tabela 5: Parâmetros microbiológicos a pesquisar nas águas de piscinas, expressão dos resultados, valores de referência e periodicidade das análises segundo o Código de Prática BSI PAS 39:2003 (HPA, 2005).**

Parâmetros microbiológicos	Expressão de resultados	Valores de referência	Periodicidade das Análises
Contagem de bactérias aeróbias a 37°C	UFC/ mL	10	Mensal
Coliformes totais	UFC/ 100mL	10	
<i>Escherichia coli</i>	UFC/ 100mL	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UFC/ 100mL	10	

Em Espanha, a Junta de Andalucía, publicou a 23 de Fevereiro de 1999, o Decreto 23/1999 onde aprova o Regulamento Sanitário das piscinas de uso colectivo. Este estabelece os seguintes parâmetros microbiológicos a pesquisar periodicamente em águas de piscinas (Tabela 6).

**Tabela 6: Parâmetros microbiológicos a pesquisar nas águas de piscinas de uso colectivo, expressão dos resultados, valores de referência e periodicidade das análises (Decreto 23/1999, 1999).**

Parâmetros microbiológicos	Expressão de resultados	Valores de referência	Periodicidade das Análises
Bactérias aeróbias a 37°C	UFC/ mL	<200	Quinzenal
Coliformes totais	UFC/ 100mL	10	Quinzenal
Coliformes fecais	UFC/ 100mL	0	Quinzenal
Estreptococos fecais	UFC/ 100mL	0	Mensal
Clostridium sulfito redutores	UFC/ 100mL	0	Mensal
Algas, larvas de artrópodos e outros organismos vivos	Ausência/ L	Ausência	Quinzenal
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência/ L	Ausência	Mensal
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/ 100mL	0	Quinzenal
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UFC/ 100mL	<1	Quinzenal

Comparando os valores de referência dos parâmetros microbiológicos comuns à legislação Portuguesa (Circular Normativa 14/DA), Inglesa e Espanhola, os valores de referência dos microrganismos a 37°C foram os que apresentaram as maiores diferenças. O valor recomendado em Portugal para este parâmetro é de até 100 UFC/mL, sendo este superior ao do Reino Unido (10 UFC/mL) e inferior ao valor de referencia recomendado pela WHO e utilizado por Espanha (<200 UFC/mL). Destes 3 países a Espanha é a que apresenta um maior número de parâmetros microbiológicos a pesquisar mensalmente nas águas de piscinas.

Os microrganismos a pesquisar nas águas de piscina variam de país para país, contudo, o importante é monitorizar regularmente as águas de piscina de forma a detetar possíveis focos de contaminação e prevenir problemas para a saúde dos utilizadores.

## 1.6 Problemas de saúde associados à utilização de piscinas.

A doença mais comum devido ao uso de piscinas é a diarreia, mas as doenças de pele e respiratórias também são frequentemente transmitidas pela água das piscinas (Rabi *et al.*, 2007).

Os banhistas, são uma das principais fontes de contaminação da água de piscinas (Bernal e Cabello, 2001; Doménech-Sanchez *et al.*, 2008), aportando grandes quantidades de microrganismos à água, provenientes da pele, urina, fezes, boca e nariz, tornando a água um veículo de possíveis doenças (Rabi *et al.*, 2007).

Segundo Bastian e Brondum (2009), durante 2003-2004 o Centro de Controlo e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, reportou 62 surtos de doença associados ao uso de águas recreativas, tendo 43 (69.4%) destes casos ocorrido em águas tratadas provenientes de piscinas ou Spas. Os microrganismos patogénicos associados a estes surtos foram os *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila* serogrupo 1, *Shigella sonnei*, *Norovirus* e *Echovirus* 9 (Bastian e Brondum, 2009).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* é um dos microrganismos mais associados a problemas de saúde devido ao uso de piscinas, existindo estudos que associam a sua presença ao aumento da incidência de folliculitis, otites externas, infeções do trato urinário e respiratório (Weingarten, 1977; Price e Ahearn, 1988; Martin *et al.*, 2003; Casellas e Sabater, 2004; WHO, 2006; Nicolau e Oliver, 2010; Schets *et al.*, 2011).

A utilização de piscinas está associada a vários surtos, de Hepatite A (Mahoney *et al.*, 1992), de meningite asséptica devido a echovirus 30 (Faustini *et al.*, 2006), de norovirus (Podewils *et al.*, 2007), Adenovirus tipo 4 (Artieda *et al.*, 2009), echovirus 30 (Faustini *et al.*, 2006), de doenças provocadas por *E. coli* O157 (Verma *et al.*, 2007), Giardia (Shields *et al.*, 2008) e também por *Cryptosporidium* (Puech *et al.*, 2001; Coetzee *et al.*, 2008; Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (Center for Disease Control (CDC), 2011).

O aumento de doentes infectados por *Cryptosporidium* nos Estados Unidos, levou o Centro de Controlo e Prevenção de Doenças deste país, em 2008, a emitir um comunicado de alerta à população. Este alerta deveu-se à triplicação do número de surtos

de Criptosporidiose entre 2004 e 2007. Neste período os surtos transmitidos por águas de piscina aumentou em mais de 100% (CDC, 2008).






No sul do Brasil foi detetada *Acanthamoeba* T3, T4 e T5 em águas de piscinas. Estas estirpes do protozoário são clinicamente significativas podendo provocar infecções da córnea ou até encefalites fatais (Caumo e Rott, 2011). Um estudo realizado ao ar e água de uma piscina hospitalar identificou a presença de diversos patogénicos, salientando-se a presença de diversas estirpes de micobactérias (Angenent *et al.*, 2005). Tendo já havido relatos de doenças pulmonares resultantes da exposição a *Mycobacterium avium complex*, devido ao uso ou manutenção de piscinas (Lumb *et al.*, 2004; Koschel *et al.*, 2006).

A Legionelose é uma das infecções associadas à utilização de piscinas e das suas instalações. A legionelose consiste num conjunto de infecções provocadas por estirpes de *Legionella*, sobretudo por *Legionella pneumophila*. A gravidade desta varia de uma doença febril leve, febre Pontic, para uma forma potencialmente fatal de pneumonia, doença do legionário (Leoni *et al.*, 2001; Borgmann-Strahsen, 2003; WHO, 2007; Doménech-Sánchez *et al.*, 2008; McCarter, 2009; Pañella *et al.*, 2010).

Para além dos problemas de saúde associados a contaminações microbianas existem estudos que alertam para as consequências, a longo prazo, para a saúde dos utilizadores das piscinas, resultantes dos contaminantes química a que estão expostos. A formação de subprodutos (potenciais cancerígenos) na água das piscinas, devido à reação dos desinfetantes utilizados na água com a matéria orgânica. Estes compostos foram recentemente associados a efeitos adversos na reprodução (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2000; Kanan e Karanfil, 2011) e problemas respiratórios (Bernard *et al.*, 2009; Marina *et al.*, 2009; Font-Ribera *et al.*, 2011).

## 1.7 Objetivos do trabalho

Com este estudo pretendeu-se avaliar a qualidade microbiológica da água das Piscinas Públicas do Distrito de Aveiro nos últimos 7 anos. Para tal avaliou-se:

-  a qualidade microbiológica das águas de piscinas públicas, do Distrito de Aveiro nos últimos 7 anos;
-  a evolução da qualidade da água ao longo do tempo;
-  os microrganismos presentes nas amostras classificadas microbiologicamente como impróprias;
-  a influência do teor de cloro na qualidade microbiológica da água;
-  o efeito da desinfeção por cloro e por radiação ultravioleta na qualidade da água.



## 2. Material e Métodos

### 2.1 Caracterização do local de estudo e das amostras analisadas

#### 2.1.1 Caracterização do local de estudo

O Distrito de Aveiro pertence à província da Beira Litoral e é limitado a norte pelo Distrito do Porto, a sul pelo de Coimbra, a leste pelo de Viseu e a oeste pelo oceano Atlântico (Figura 1).



Figura 3: Mapa do distrito de Aveiro (Retirado de [1]).

Este abrange 19 concelhos: Águeda, Albergaria-a-Velha, Anadia, Arouca, Aveiro, Castelo de Paiva, Espinho, Estarreja, Ílhavo, Mealhada, Murtosa, Ovar, Oliveira de Azeméis, Oliveira do Bairro, Santa Maria da Feira, São João da Madeira, Sever do Vouga, Vagos e Vale de Cambra.

#### 2.1.2 Caracterização das amostras analisadas

Existem mais de 40 piscinas públicas no distrito de Aveiro, contudo, neste estudo só foram analisados resultados de 32 piscinas. Os critérios de escolha das piscinas foram o

período de funcionamento (anual) e a existência de pelo menos 2 resultados de análises completas por ano (quantificação/pesquisa de todos os parâmetros microbiológicos e determinação de valor de pH e cloro residual livre). Estas 32 piscinas distribuem-se geograficamente, da seguinte forma: cinco no Concelho de Aveiro; cinco no Concelho de Ílhavo; quatro no Concelho de Oliveira do Bairro; três no Concelho de Santa Maria da Feira; duas no Concelho de Anadia; duas no Concelho de Arouca; duas no Concelho de Estarreja; duas no Concelho de Mealhada; duas no Concelho de Ovar; duas no Concelho de Sever do Vouga; uma no Concelho de Vagos.

Foram considerados os resultados de 1886 análises bacteriológicas com resultados de pH e de cloro residual livre das 32 piscinas cobertas do Distrito de Aveiro realizadas entre Janeiro de 2004 e Dezembro de 2010. As amostras foram colhidas pelos Técnicos de Saúde Ambiental de cada concelho no âmbito do programa de vigilância sanitária das piscinas, que é da responsabilidade das autoridades de saúde pública de cada concelho. As análises foram realizadas no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro (LSPA). A concentração de desinfetante residual e os valores de pH foram medidos no local de colheita ou no LSPA.

As 32 piscinas estudadas funcionam anualmente, tendo como utilizadores crianças e adultos. A média de utilizadores por semana é de 928 pessoas. Das piscinas estudadas 30 são abastecidas por água de rede pública e as restantes 2 piscinas são abastecidas através de um sistema particular.

O processo de manutenção da água nas piscinas estudadas consiste num sistema com recirculação de água (uso de filtro de areia) e tratamento químico por cloro. O doseamento do desinfetante nas várias piscinas é realizado de forma automática.

De realçar que nas piscinas 1, 2, 3, 4, 5, 12, 13, 14, 18, 21, 22, 31 e 32 (40,6%) a radiação ultravioleta é usada como tratamento complementar para a desinfecção da água.

A colheita das amostras para análise microbiológica e química foi feita de acordo com o procedimento descrito na Tabela 7. Em cada amostragem foram colhidas duas amostras, uma à superfície e outra em profundidade, a cerca de 1 m da superfície, no mesmo local da piscina. Os parâmetros microbiológicos analisados na água de profundidade foram os microrganismos cultiváveis a 37°C, as bactérias coliformes, os

coliformes fecais/*E. coli* e os enterococos. Na água recolhida à superfície pesquisaram-se *Pseudomonas aeruginosa*, os estafilococos produtores de coagulase e o número total de estafilococos.

**Tabela 7: Procedimento de amostragem para parâmetros microbiológicos e físico-químicos, segundo a Circular Normativa 14/DA, 2009.**

ANÁLISE	COLHEITA	
	SUPERFÍCIE	PROFUNDIDADE
<b>ANÁLISE BACTERIOLÓGICA</b> (o local de colheita deve ser junto ao rebordo interno, no ponto mais afastado da entrada de água na piscina)	1. Colocar as luvas; 2. Proceder à devida identificação da amostra (utilizar a etiqueta do frasco); 3. Remover cuidadosamente a tampa do frasco esterilizado, junto à água, mantendo-o aproximadamente a 45 °  <b>Nota:</b> A tampa deve ser conservada na mão, segurando-a com a parte inferior voltada para baixo.	1. Colocar as luvas 2. Proceder à devida identificação da amostra (utilizar a etiqueta do frasco); 3. Submergir o frasco em posição vertical a cerca de 1 metro de profundidade, ou, por aproximação à altura do braço. No momento em que é alcançada a profundidade desejada deve-se inclinar o frasco e deslocá-lo para a frente até estar completamente cheio;
	4. Encher o frasco executando pequenos movimentos circulares e lentos à superfície da água, com o cuidado de manter o frasco bem seguro na mão e sempre voltado para a frente.  <b>Nota:</b> O frasco não deve ser enchido completamente, assim como não deve ser enxaguado  5. Retirar o frasco e fechá-lo bem; 6. Acondicionar o frasco em mala térmica a aproximadamente 4° C; 7. O prazo entre a colheita e o início da análise não pode ultrapassar as 6 horas.	4. Retirar o frasco e fechá-lo bem; 5. Acondicionar em mala térmica a aproximadamente 4° C; 6. O prazo que entre a colheita e o início da análise não pode ultrapassar as 6 horas.  <b>Nota:</b> Idealmente a amostragem deveria ser feita de forma a possibilitar a recolha por estratos de 20 em 20 cm, uma vez que a distribuição de microrganismos na água não é homogênea.

#### ANÁLISE QUÍMICA

(o local de colheita deve ser junto a uma das saídas de água)

As colheitas destinadas à análise química devem ser efectuadas seguindo os procedimentos preconizados para a colheita em profundidade destinada à análise bacteriológica

## 2.2 Legislação utilizada para a classificação das águas das piscinas

Devido à inexistência de legislação específica, a análise microbiológica e química, foi feita de acordo com as recomendações expressas no Decreto Regulamentar nº 5/97 de 31 de Março de 1997 e na Circular Normativa 14/DA de 21 de Agosto de 2009. Os

parâmetros microbiológicos e químicos analisados neste estudo encontram-se descritos na Tabela 8 e 9, respectivamente.

**Tabela 8: Parâmetros microbiológicos analisados neste estudo.**

Parâmetros microbiológicos	Expressão de resultados	Método analítico	Valores de referência <sup>1</sup>	
			VR	VL
Microrganismos cultiváveis a 37°C	UFC/ mL	ISO 6222	≤100*	-
Bactérias coliformes	UFC/ 100mL	ISO 9308-1 modificada	0	10
<i>Escherichia coli</i> <sup>2</sup>	UFC/ 100mL	ISO 9308-1 modificada	-	0
Enterococos	UFC/ 100mL	ISO 7899-2	-	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	UFC/ 100 mL	ISO 12780 modificada	-	0
Estafilococos coagulase (+) <sup>3</sup>	UFC/ 100 mL	NP-4343	-	0**
N.º total de estafilococos	UFC/ 100 mL	NP-4343	≤20*	0

VR – Valor Recomendado; VL – Valor Limite.

\* O Valor Recomendado poderá ser ultrapassado uma vez por época de abertura ao público ou por ano civil.

\*\* 0/100 mL em 90% das amostras.

**Tabela 9: Parâmetros químicos analisados neste estudo.**

Parâmetros químicos	Expressão de resultados	Método analítico	Valores de referência <sup>4</sup>		Valores indicativos <sup>5</sup>
			VR	VL	
<b>pH</b>	Escala Sorênsen a 25°C	Eletrometria	7,4 a 7,6	7 a 8	6,9 – 8,0
<b>Cloro residual livre</b>	mg/l Cl <sub>2</sub>	Colorimetria	–	0,5 – 1,2	0,5 – 1,2
				(7,0 > pH < 7,4)	(6,9 > pH ≤ 7,4)
				1,0 – 2,0	1,0 – 2,0
				(7,4 > pH < 8,0)	(7,5 > pH ≤ 8,0)

VR – Valor Recomendado; VL – Valor Limite.

As análises realizadas entre Janeiro de 2004 e Dezembro de 2006 foram analisadas segundo valores de referência adotados a nível regional pelo Centro Regional de Saúde Pública do Centro. Os parâmetros e os valores de referência são semelhantes aos que constam do Decreto Regulamentar nº 5/97 de 31 de Março de 1997, destacando-se só

<sup>1</sup> Decreto Regulamentar nº 5/97 de 31 de Março DR nº 75, Série I-B e Circular Normativa nº 14/DA, DGS 21/08/09.

<sup>2</sup> Entre Janeiro de 2004 e Dezembro de 2006, realizava-se a pesquisa e quantificação de coliformes fecais e não de *E. coli*, a expressão dos resultados, o método analítico e os valores de referência deste parâmetro era igual aos da *E. coli*.

<sup>3</sup> Ou Estafilococos produtores de coagulase

<sup>4</sup> Circular Normativa nº 14/DA, DGS 21/08/09.

<sup>5</sup> Decreto Regulamentar nº 5/97 de 31 de Março DR nº 75, Série I-B.

uma alteração a nível de um parâmetro, *E. coli*. Até esta data as recomendações deste centro iam no sentido de que fosse realizada a pesquisa e quantificação de coliformes fecais nas águas de piscina e não de *E. coli*, como recomenda o Decreto Regulamentar nº 5/97. O valor limite dos coliformes fecais era de 0 UFC/100 mL tal como para *E. coli*.

As análises realizadas de Janeiro de 2007 até 1 de Setembro de 2009 foram classificadas segundo o Decreto Regulamentar nº 5/97. A partir de Setembro de 2009 as amostras foram classificadas segundo as recomendações expressas na Circular Normativa 14/DA.

## **2.3 Métodos de deteção utilizados**

### **2.3.1 Métodos de deteção dos parâmetros microbiológicos**

#### **2.3.1.1 Microrganismos cultiváveis a 37°C**

O procedimento para a pesquisa e a quantificação dos microrganismos cultiváveis a 37°C seguiu na íntegra a ISO 6222:1999.

Depois de homogeneizar a amostra, semeou-se por incorporação 1 mL e 0,1 mL (em duplicado) no meio de cultura Yeast extract agar (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra). As placas foram incubadas durante  $21 \pm 3$  h a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ . Foram contadas todas as colónias visíveis e os resultados foram expressos em UFC/mL.

#### **2.3.1.2 Bactérias coliformes**

O procedimento para a pesquisa e a quantificação de bactérias coliformes seguiu a ISO 9308-1:2000 modificada.

Após filtração de 100 mL da amostra, a membrana foi colocada em placas de meio de cultura Lauril sulfato de sódio (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) que foram incubadas a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  durante  $44 \pm 4$ h. Procedeu-se à contagem de todas as colónias amarelas e laranja. Foram confirmadas todas as colónias características até ao número máximo de 10 colónias. Para confirmar se as colónias eram bactérias coliformes, realizou-se o teste da oxidase e confirmou-se a fermentação do manitol.

Para se realizar o teste da oxidase, semeou-se as colónias em placas de meio gelosado não seletivo de maneira a obter colónias isoladas e incubou-se a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $21\pm 3$  horas. Após incubação, fez-se o teste de oxidase. Considerou-se como teste positivo o aparecimento de cor azul-púrpura escuro em 30 segundos.

Para observar a fermentação do manitol, inoculou-se as colónias isoladas em caldo de Schubert (Bio-rad, Philadelphia, EUA) e incubou-se a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $21\pm 3$  horas. O desenvolvimento de bactérias coliformes no caldo de Schubert foi avaliado pelo aparecimento de turvação geralmente combinada com produção de gás no tubo de Durham, resultando da fermentação do manitol. Os resultados foram expressos em UFC/100 mL.

### **2.3.1.3 Coliformes fecais/*E. coli***

O procedimento para a pesquisa e a quantificação de Coliformes fecais/*E. coli* seguiu a ISO 9308-1:2000 modificada.

Após filtração de 100 mL da amostra, colocam-se as membranas em placas de Lauril sulfato de sódio (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) e incubou-se a  $44,0\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante  $21\pm 3$ h. Procedeu-se à contagem de todas as colónias amarelas e laranja. Foram confirmadas todas as colónias características até ao número máximo de 10 colónias. Para confirmar se as colónias eram coliformes fecais e *E. coli*, realizou-se o teste da oxidase e inoculou-se o meio de Fluorocult DEV (Merck, Darmstadt, Alemanha) que incubou a  $44,0\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante  $21\pm 3$  horas. Após incubação, observou-se: (1) a viragem do indicador do meio, viragem do indicador para amarelo devido à produção de ácido confirma que a bactéria é lactose positiva; (2) a fluorescência sob luz UV (366 nm), fluorescência confirma que a bactéria possui  $\beta$ -glucoronidase; (3) a produção de indol, adicionando 0,2 mL a 0,3 mL de reagente de Kovacs. O desenvolvimento de cor vermelha à superfície do meio confirma a produção de indol.

Consideram-se coliformes fecais todas as colónias que foram oxidase negativa e lactose positiva. Consideram-se *Escherichia coli* todas as colónias oxidase negativa, lactose positiva e que apresentaram fluorescência e/ou Indol positivo. Na Figura 4 podem observar-se colónias de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* em meio gelosado de Lauril sulfato de sódio.

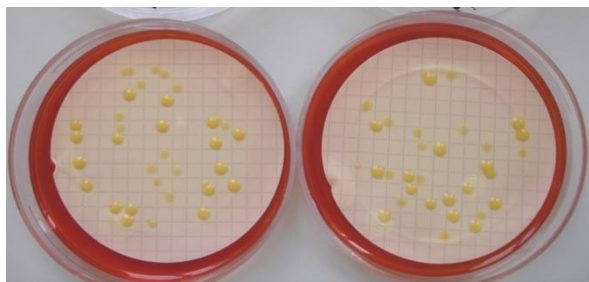


Figura 4: *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* em meio gelosado de Lauril sulfato de sódio.

Os resultados foram expressos em UFC/100 mL.

#### 2.3.1.4 Enterococos

O procedimento para a pesquisa e a quantificação de enterococos segue na íntegra a ISO 7899-2:2000.

Filtraram-se 100 mL da amostra e as membranas foram colocadas sobre placas de meio de Agar Slanetz e Bartley (Difco, Sparks, EUA) que foram Incubadas a  $36 \pm 2$  °C por  $44 \pm 4$  horas. Após incubação, consideraram-se como colónias típicas todas as colónias de cor vermelha, castanha ou rosa com ou sem aureola (Figura 5).

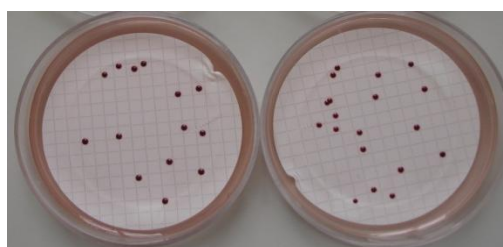


Figura 5: *Enterococcus faecalis* em meio agar Slanetz & Bartley

Quando se observaram colónias típicas, transferiu-se a membrana, sem a inverter, para uma placa de BÍlis Esculina Azida (BEA) agar (Bio-rad, Philadelphia, EUA) e incubou-se a  $44 \pm 0,5$ °C por 2 horas. O desenvolvimento de colónias negras com um halo negro ou castanho no meio circundante, resultante do processo de hidrólise da esculina, indicou a presença de enterococos intestinais (Figura 6).

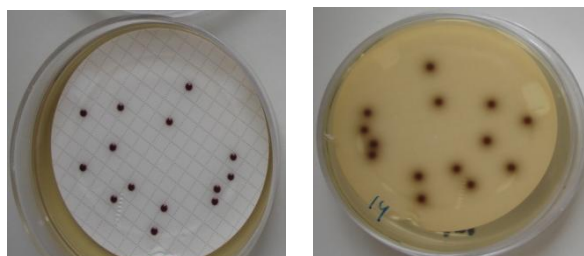


Figura 6: *Enterococcus faecalis* em BEA

Os resultados foram expressos em UFC/100 mL.

### 2.3.1.5 *Pseudomonas aeruginosa*

O procedimento para a pesquisa e a quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* seguiu a ISO 12780:2001 modificada.

Foram filtrados 100 mL da amostra de água e as membranas foram colocadas em placa de Petri contendo *Pseudomonas* CN agar base (Difco, Sparks, EUA) e incubadas a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  por  $44 \pm 4$  horas. As placas foram examinadas após  $22 \pm 2$  horas e  $44 \pm 4$  horas. Contou-se todas as colónias que produziram uma pigmentação azul/verde (piocianina) como *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 7).

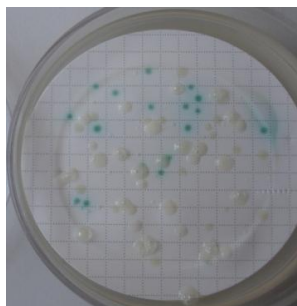


Figura 7: *Pseudomonas aeruginosa* em meio de *Pseudomonas* isolation agar

As membranas foram observadas sob luz ultravioleta e foram contadas as colónias brancas que não produziram piocianina e que apresentavam fluorescência como presumíveis *Pseudomonas aeruginosa* que foram confirmadas em caldo de acetamida como descrito mais abaixo.

As colónias que produziram uma pigmentação castanho avermelhada e não produziram fluorescência foram contadas como presumível *Pseudomonas aeruginosa* e confirmadas através do teste da oxidase, cultura em caldo de acetamida e em meio de King B como descrito abaixo.

No mínimo 3 colónias foram repicadas para placas de meio gelosado não seletivo e incubadas a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  durante  $22 \pm 2$  horas, esta etapa permitiu-nos verificar a pureza das repicagens e realizar as etapas de confirmação conforme a Tabela 10.

Para a cultura em caldo de acetamida (Biogerm, Maia, Portugal) semearam-se os tubos com as subculturas provenientes do meio gelosado não seletivo e incubaram-se durante  $22 \pm 2$  horas a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$ . Após as 22 horas juntou-se a cada tubo uma a duas gotas



de reagente de Nessler e examinaram-se para observar se existiu produção de amoníaco. Esta caracteriza-se pela formação de uma pigmentação entre o amarelo e o vermelho tijolo, conforme a concentração.

Para a cultura em meio de King B repicou-se as colónias com pigmentação castanho avermelhada, oxidase positiva provenientes da subcultura em meio não seletivo, para meio King B (Biogerm, Maia, Portugal) e incubou-se durante 5 dias a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Diariamente examinou-se o crescimento sob luz UV de forma a detetar a presença de alguma fluorescência. Registou-se como positiva qualquer fluorescência até 5 dias.

A tabela 10 resume as etapas de confirmação segundo o tipo de colónias.

**Tabela 10: Etapas requeridas para a confirmação de colónias que se desenvolvem em CN agar.**

Descrição das colónias em gelose CN	Amoníaco a partir da acetamida	Produção de oxidase	Fluorescência no meio de King B	Confirmadas como <i>Ps. aeruginosa</i>
<b>Azul/verde</b>	NT	NT	NT	<b>Sim</b>
<b>Fluorescentes</b>	+	NT	NT	<b>Sim</b>
<b>Castanho/avermelhado</b>	+	+	+	<b>Sim</b>
<b>Outros tipos</b>	NT	NT	NT	Não

NT: não testado

Os resultados foram expressos em UFC/100 mL.

### **2.3.1.5 Estafilococos coagulase positiva e número total de estafilococos**

O procedimento para a pesquisa e a quantificação de estafilococos coagulase positivos e do número total de estafilococos seguiu na íntegra a NP 4343:1998.

Filtrou-se 100 mL da amostra e colocou-se as membranas filtrantes sobre placas de agar Manitol salgado (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) que foram incubadas a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $44\pm 4$  horas.

Contaram-se todas as colónias amarelas ou brancas, envolvidas ou não por um halo amarelo. Não se contaram as colónias grandes mucosas, que correspondem a bactérias do género *Bacillus* (Figura 8).

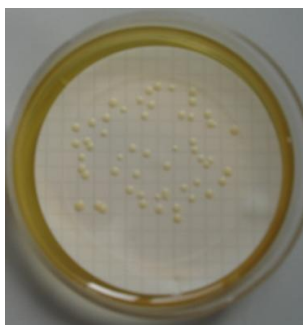


Figura 8: *Staphylococcus aureus* em meio de Agar Manitol Salgado.

Repicaram-se três colônias de cada tipo, para meio de cultura não seletivo, incubou-se a  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $24\pm 4$  horas e procedeu-se ao estudo morfológico e bioquímico.

Efetuuou-se a coloração de Gram e observou-se a morfologia das colônias após coloração de Gram. Das colônias isoladas, cocos Gram positivos, foram feitos os seguintes testes bioquímicos: pesquisa da catalase; pesquisa da coagulase; determinação do tipo respiratório. Os resultados foram expressos em UFC/100 mL.

### 2.3.2 Métodos de detecção dos parâmetros químicos

#### 2.3.2.1 Cloro residual livre

A quantificação do valor de cloro residual livre foi realizada por um método analítico de colorimetria (SMEWW 4500 – Cl G, método clorimétrico DPD ) e os resultados foram expressos em  $\text{mgL}^{-1} \text{Cl}_2$ .

#### 2.3.2.2 pH

A quantificação do pH foi realizada por um método analítico de eletrometria (SMEWW 4500 –  $\text{H}^+$ ) e os resultados foram expressos segundo a escala de Sorënsen a  $25^{\circ}\text{C}$ .

### 2.4 Tratamento estatístico

Os dados foram organizados numa base usando o Microsoft Excel. Posteriormente, os dados foram transferidos para uma base de dados do Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 16, onde foi realizado o tratamento estatístico. Foi analisada a

correlação entre as variáveis e aplicados os testes não paramétrico Mann-Whitney U e Kruskal-Wallis. Para todas as hipóteses testadas, foi considerado um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).



### 3. Resultados

#### 3.1 Classificação microbiológica das águas de piscinas do Distrito de Aveiro

Tendo em conta a legislação em vigor, das 1886 análises microbiológicas realizadas em águas de piscina entre 2004 e 2010, 198 (10,5%) das amostras foram classificadas como impróprias.

Das 1886 amostras, 317 (16,8%) apresentaram teores de cloro residual livre inferiores ao valor limite (VL) e 727 (38,5%) tinham um teor de cloro residual livre superior ao valor limite. Oitocentas e quarenta e duas (44,7%) amostras tinham um teor de cloro residual livre dentro do valor limite (Tabela 11).

A média dos valores de cloro residual livre foi de  $1,73 \text{ mgL}^{-1}$ , o valor mínimo foi de  $0 \text{ mgL}^{-1}$  e máximo foi de  $30,20 \text{ mgL}^{-1}$ .

Tabela 11: Relação entre o teor de cloro residual livre e a qualidade microbiológica das amostras.

Classificação microbiológica	Cloro residual livre					
	<VL		VL		>VL	
	nº	%	nº	%	nº	%
Própria	236	13,9	764	45,3	688	40,8
Imprópria	81	40,9	78	39,4	39	19,7
Total	317	16,8	842	44,7	727	38,5

VL, valor limite.

Das 317 amostras com teores de cloro residual livre inferiores ao VL foram classificadas como impróprias 25,6%. Nove virgula três por cento das 842 amostras que apresentam valores de cloro residual livre dentro do VL e 5,4% das 727 amostras que apresentam valores de cloro residual livre superiores ao VL foram classificadas como impróprias.

A correlação entre os teores de cloro residual livre e a classificação microbiológica foi significativa, o nível de significância foi de 0,000 (correlação de Pearson).

### 3.2 Avaliação da qualidade microbiológica das águas por parâmetro

Das 198 amostras classificadas como impróprias, em 36 (18,2 %) o valor limite (VL) e/ou o valor recomendado (VR) foi ultrapassado por mais que um parâmetro microbiológico.

Dos parâmetros microbiológicos analisados, entre 2004 e 2010, os microrganismos a 37°C e o número total de estafilococos foram os que mais vezes ultrapassaram o VL. Os microrganismos a 37°C ultrapassaram o VL em 67 (3,6%) amostras e o número total de estafilococos ultrapassaram o VL em 75 (4,0%) das amostras. Os estafilococos coagulase positiva foram os microrganismos que apresentaram a menor percentagem (0,4%) de amostras superiores ao VL (Tabela 12).

**Tabela 12: Número e percentagem de amostras que ultrapassaram o Valor Limite para os diferentes parâmetros microbiológicos analisados.**

Parâmetro microbiológico	VL	Amostras >VL	
		Nº	%
Microrganismos a 37°C	100 UFC/1mL*	67	3,6
Bactérias coliformes	10 UFC/100mL	10	0,5
Coliformes fecais/ <i>E. coli</i>	0 UFC/100mL	21	1,1
Enterococos	0 UFC/100mL	24	1,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 UFC/100mL	53	2,8
Estafilococos coagulase (+)	0 UFC/100mL	8	0,4
Nº Total de estafilococos	20 UFC/100mL*	75	4,0

\*VR; VL, valor limite; VR, valor recomendado.

Das 67 amostras que ultrapassaram o VL de microrganismos a 37°C em 17 destas amostras (25,4%) o VL de *Pseudomonas aeruginosa* foi ultrapassado. Nestas amostras o VL dos estafilococos coagulase positiva e do número total de estafilococos foi ultrapassado em 2 (3,0%) e 6 (9,0%) destas amostras, respetivamente (Tabela 13).

Das 10 amostras que apresentavam teores de bactérias coliformes o VL do número total de estafilococos e de *Pseudomonas aeruginosa* foi ultrapassado respetivamente, em 20 e 30% (Tabela 13).

Em 6 (28,6%), das amostras que ultrapassavam o VL de coliformes fecais/*E. coli*, foram detetadas *Pseudomonas aeruginosa* acima do VL e em 3 (14,3%) foram detetados

teores superiores ao VL do número total de estafilococos. Os estafilococos coagulase positiva nunca excederam o VL nestas amostras (Tabela 13).

Das 24 amostras que ultrapassaram o VL de Enterococos em 9 destas amostras (37,5%) foi ultrapassado o VL de *Pseudomonas aeruginosa*, em 3 (12,5%) o VL dos estafilococos coagulase positiva e em 5 (20,8%) o VL do número total de estafilococos (Tabela 13).

**Tabela 13:**Número e percentagem de amostras que ultrapassaram o valor limite para os microrganismos patogénicos quando os microrganismos indicadores ultrapassavam o valor limite.

Microrganismos patogénicos		VL	Microrganismos indicadores acima VL							
			Microrganismos a 37°C		Bactérias coliformes		Coliformes fecais/ <i>E. coli</i>		Enterococos	
			Amostras >VL							
			Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 UFC/100mL	17	25,4	3	30	6	28,6	9	37,5	
Estafilococos coagulase (+)	0 UFC/100mL	2	3,0	0	0	0	0	3	12,5	
Nº Total de Estafilococos	20 UFC/100mL	6	9,0	2	20	3	14,3	5	20,8	

VL, valor limite.

Nas 131 amostras classificadas microbiologicamente como impróprias que apresentavam teores de microrganismos a 37°C abaixo do VL foram quantificados teores do número total de estafilococos, *Pseudomonas aeruginosa* e estafilococos coagulase positiva acima do VL em 69 (52,7%), 36 (27,5%) e 6 (4,6%) destas amostras, respetivamente (Tabela 14).

Foram quantificados teores superiores ao VL de *Pseudomonas aeruginosa* e do número total de estafilococos, em 26,6 e 38,3%, respetivamente, das 188 amostras impróprias que apresentavam teores de bactérias coliformes abaixo do VL (Tabela 14).

Nas amostras classificadas microbiologicamente como impróprias que apresentavam teores de bactérias coliformes e coliformes fecais/*E. coli* abaixo do VL, 8 ultrapassaram o VL de estafilococos coagulase positiva (Tabela 14).

Das 177 amostras impróprias com teores de coliformes fecais/*E. coli* inferiores ao VL em 72 (40,7%) foi ultrapassado o VL do número total de estafilococos e em 47 (26,6%) foi ultrapassado o VL de *Pseudomonas aeruginosa* (Tabela 14).

Das 198 amostras classificadas como impróprias não foi ultrapassado o VL de enterococos em 174. Destas 174 amostras, 70 (40,2%) ultrapassaram o VL para o número total de estafilococos, 44 (25,3%) ultrapassaram o VL para *Pseudomonas aeruginosa* e 5 (2,9%) ultrapassaram o VL para estafilococos coagulase positiva (Tabela 14).

**Tabela 14: Número e percentagem de amostras que ultrapassaram o valor limite para os microrganismos patogénicos quando os microrganismos indicadores estavam abaixo do valor limite.**

Microrganismos patogénicos		VL	Microrganismos indicadores abaixo VL							
			Microrganismos a 37°C		Bactérias coliformes		Coliformes fecais/ <i>E. coli</i>		Enterococos	
			Amostras >VL							
			Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 UFC/100mL	36	27,5	50	26,6	47	26,6	44	25,3	
Estafilococos coagulase (+)	0 UFC/100mL	6	4,6	8	4,3	8	4,5	5	2,9	
Nº Total de estafilococos	20 UFC/100mL	69	52,7	73	38,3	72	40,7	70	40,2	

VL, valor limite.

Das amostras classificadas como impróprias devido à presença de microrganismos a 37°C (Tabela 15), 61,2% apresentam valores de cloro residual abaixo do VL e só 8,9% das amostras estavam acima do VL. Das amostras impróprias devido à presença de bactérias coliformes, metade apresentava um valor de cloro residual livre dentro do VL (50,0%). Das amostras classificadas como impróprias devido à presença de coliformes fecais/*E. coli* e de enterococos, mais de metade (57,1% e 58,3%, respetivamente) apresentavam valores de cloro residual abaixo do VL. Cerca de 40% das amostras classificadas como impróprias devido à presença de *Pseudomonas aeruginosa*, tinham um teor de cloro residual livre inferior ao VL e cerca de 40% apresentava teores de cloro residual livre dentro do VL. No caso dos estafilococos coagulase positiva metade das amostras tinha o cloro residual livre abaixo do VL. Das amostras classificadas como impróprias devido ao número total de estafilococos, 44,0% das amostras tinha valores de cloro residual livre dentro do limite legislado (Tabela 15).

Uma percentagem alta de amostras consideradas impróprias devido à presença de *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos coagulase positiva e de estafilococos totais apresentaram valores de cloro residual superiores ao VL (entre 20,8 a 25,0%). Para os restantes parâmetros, a percentagem de amostras com valores de cloro residual superior ao VL foi igual ou inferior a 10,0% (Tabela 15).



Tabela 15: Percentagem e número de amostras segundo os valores de cloro residual livre por parâmetros nas águas de piscina classificadas microbiologicamente como impróprias, durante o período de estudo.

Parâmetros microbiológicos	Cloro residual livre					
	<VL		VL		>VL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Microrganismos a 37°C	41	61,2	20	29,9	6	8,9
Bactérias coliformes	4	40	5	50	1	10
Coliformes fecais/ <i>E. coli</i>	12	57,1	8	38,1	1	4,8
Enterococos	14	58,3	9	37,5	1	4,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	39,6	21	39,6	11	20,8
Estafilococos coagulase (+)	4	50	2	25	2	25,0
Nº Total de Estafilococos	26	34,7	33	44,0	16	21,3

VL, valor limite.

### 3.3 Avaliação da qualidade microbiológica da água por piscina

Das 32 piscinas estudadas, o número mínimo de análises bacteriológicas realizadas por piscina, foi de 24 (piscina 20) e o máximo foi de 167 análises (piscina 29). O número médio de análises por piscina foi de 59.

Durante o período de estudo algumas piscinas apresentaram uma percentagem muito mais elevada de águas impróprias que a média geral das várias piscinas estudadas (Figura 9). Entre elas salientam-se as piscinas 3, 6, 7, 8, 12, 19, 20, 23 e 24. Noventa e nove (50,0%) das amostras impróprias foram colhidas nestas 9 piscinas. A maior parte das piscinas estudadas apresentou uma percentagem de águas impróprias inferior à média do total das piscinas analisadas (Figura 9).

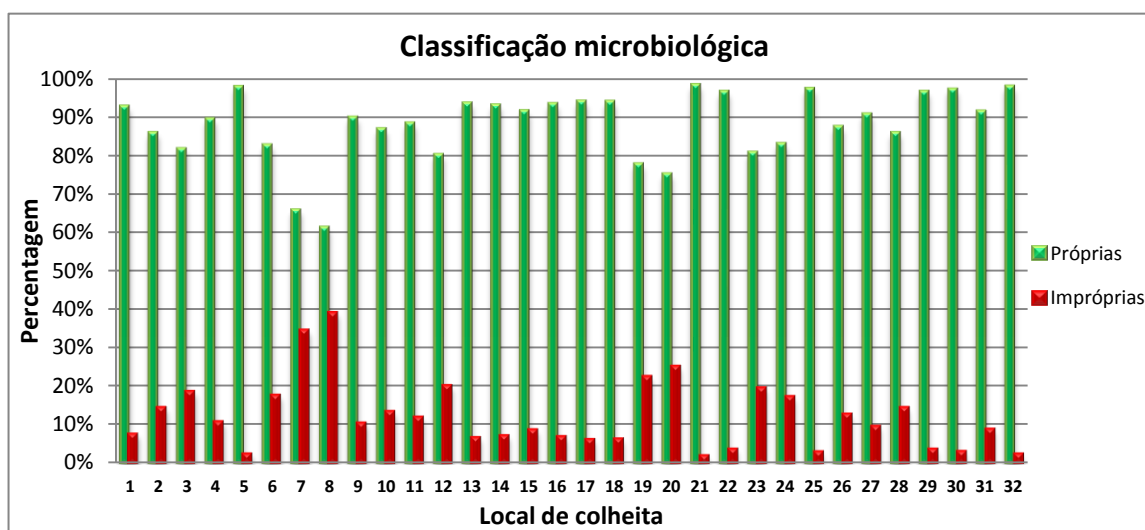


Figura 9: Classificação microbiológica das amostras por local de colheita entre 2004 e 2010.

O teor de cloro residual livre nestas 9 piscinas variou muito. Deste conjunto só a piscina 3 apresentou uma percentagem elevada (63,0%) de amostras com um valor de cloro residual superior ao VL (Figura 10). Nesta piscina só 1,9% das amostras é que apresentaram valores de cloro inferiores ao limite. Para as piscinas 6, 19, 20 e 23 a percentagem de amostras com valor de cloro abaixo do VL é inferior a 14, %. As piscinas 7 e 8 apresentam, no entanto, uma percentagem de amostras com cloro residual livre inferior ao VL elevada (53,1% e 66,7%, respetivamente).

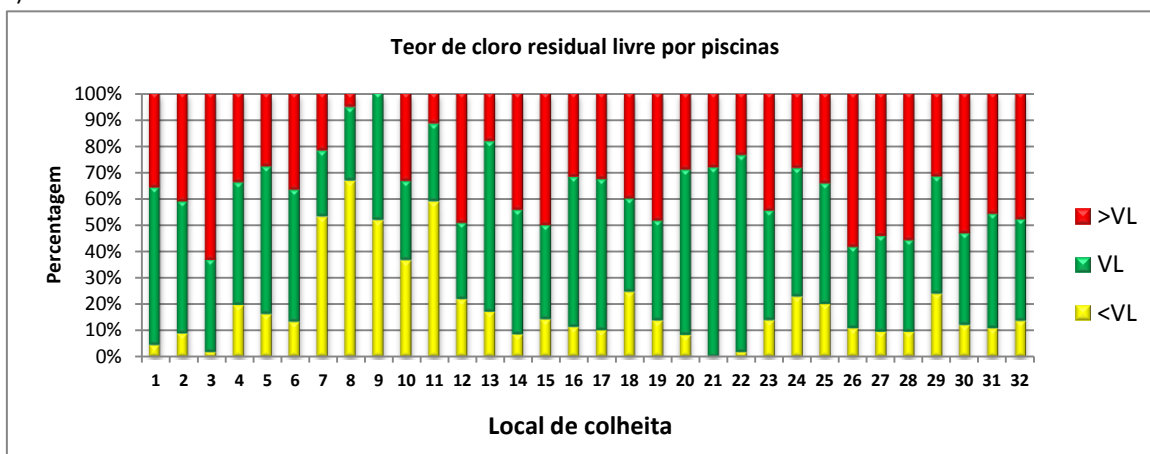
Das 32 piscinas estudadas, a piscina 21, para além de ser a que apresenta a menor percentagem de amostras impróprias (1,9%) é também a única que não apresenta valores de cloro residual inferiores ao VL (Figura 10).

Algumas das piscinas que apresentam águas com melhor qualidade, piscinas 25, 29, 30 e 32, têm uma percentagem alta (entre 31,7 a 53,0%) de amostras com teores de cloro residual superiores ao VL. Nas piscinas 5 e 21, que pertencem ao grupo de piscinas que apresentaram menor percentagem de amostras impróprias, todas as amostras classificadas como impróprias apresentaram valores de cloro residual livre superiores ao VL (Figura 10).

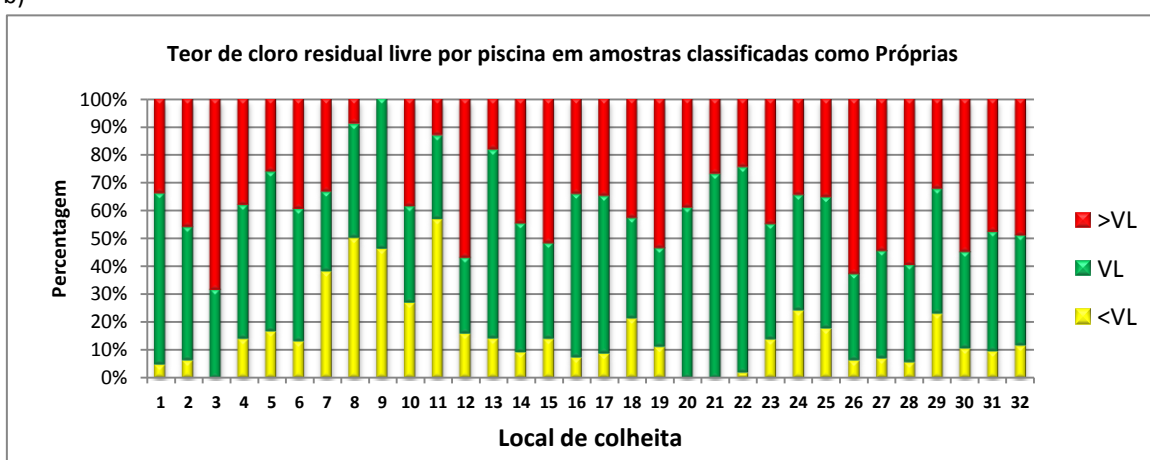
Na piscina 22 as amostras classificadas como impróprias apresentam teores de cloro residual livre dentro do VL, por sua vez, nas piscinas 9, 10, 25 e 32, todas as amostras com esta classificação apresentaram valores de cloro residual livre inferiores ao VL (Figura 10).

A piscina 30, com 53,0% das amostras com teores de cloro residual livre superiores ao VL, apesar de não ser a piscina com a maior percentagem de amostra com teores de cloro residual superiores ao VL, destaca-se por ao longo do estudo ter 10 amostras com teores de cloro residual superiores a  $10 \text{ mgL}^{-1}$ . Nesta piscina quando os teores de cloro residual livre estavam acima do VL, a média foi de  $4,78 \text{ mgL}^{-1}$ , o teor mínimo de cloro foi de  $1,28 \text{ mgL}^{-1}$  e o teor máximo foi de  $30,1 \text{ mgL}^{-1}$ .

a)



b)



c)

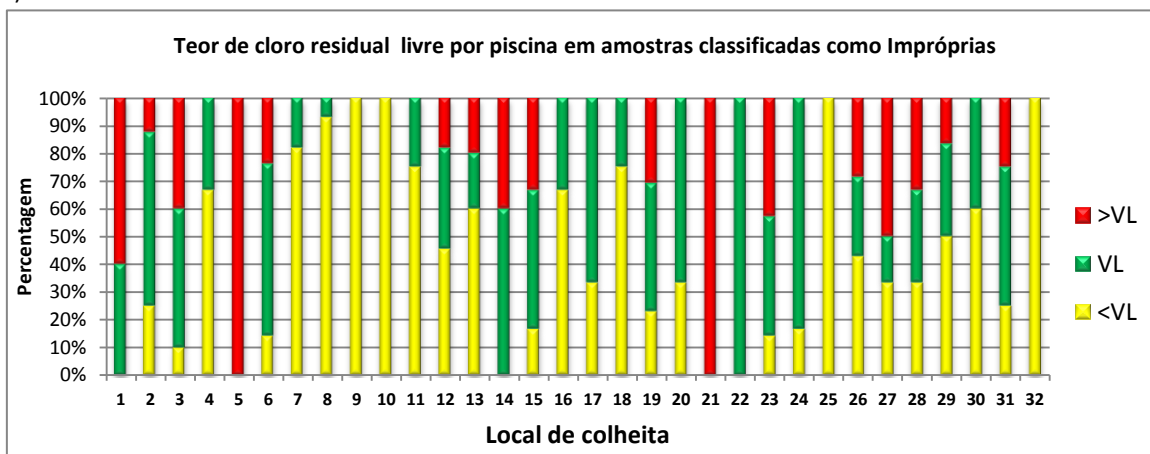


Figura 10: a) Teor de Cloro residual livre por local de colheita entre 2004 e 2010; b) Teor de Cloro residual livre nas amostras classificadas microbiologicamente como próprias, por local de colheita, ao longo do período de estudo; c) Teor de Cloro residual livre nas amostras classificadas microbiologicamente como impróprias, por local de colheita, ao longo do período de estudo. VL, valor limite.

Embora, no total das piscinas, só em 3,6% das amostras é que os microrganismos a 37°C ultrapassaram o VL. Analisando os resultados por piscina, esse valor foi muito mais

vezes ultrapassado (até 28,1%), para algumas piscinas, nomeadamente as piscinas 7, 8, 9 e 12 (Tabela 16).

As piscinas 10 e 20 apresentaram percentagens elevadas de amostras de amostras impróprias devido à presença de coliformes fecais/*E. coli* relativamente à média geral. Nestas 2 piscinas, tal como na piscina 8, a percentagem de amostras classificadas como impróprias devido à presença de enterococos também foi superior à média (Tabela 16).

As piscinas 6 e 7 apresentaram uma percentagem de águas impróprias devido à presença de *Pseudomonas aeruginosa* de 12,5 e 18,8%, respetivamente, esta percentagem é maior que a percentagem geral observadas para as amostras classificadas como impróprias devido à presença de *Pseudomonas aeruginosa* (Tabela 16).

Os estafilococos coagulase positiva foram o parâmetro, no total das piscinas, que apresentou a menor percentagem de amostras com valores acima do VL (0,4%), contudo, em sete piscinas deste estudo registaram-se percentagens muito mais elevadas, caso das piscinas 5, 7, 8, 12, 15, 27 e 28 (Tabela 16).

Nas piscinas 19 e 23 a percentagem de amostras classificadas como impróprias devido à presença do número total de estafilococos superior ao VL foi muito superior à média observada nas outras piscinas (Tabela 16).

**Tabela 16: Número e percentagem de amostras que ultrapassaram o Valor Limite para os diferentes parâmetros microbiológicos analisados em cada piscina.**

Parâmetros microbiológicos														
Amostras >VL por Piscina	Microrganismos a 37°C		Bactérias coliformes		Coliformes fecais/ <i>E.coli</i>		Enterococos		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Estafilococos coagulase (+)		Nº total de Estafilococos	
	VL= 100 UFC/1mL		VL= 10 UFC/100mL		VL= 0 UFC/100mL		VL= 0 UFC/100mL		VL= 0 UFC/100mL		VL= 0 UFC/100mL		VL= 20 UFC/100mL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,5	1	1,5	0	0,0	4	6,0
2	1	1,8	0	0,0	0	0,0	1	1,8	2	3,6	0	0,0	4	7,1
3	2	3,7	0	0,0	2	3,7	2	3,7	2	3,7	0	0,0	2	3,7
4	3	5,4	0	0,0	1	1,8	1	1,8	1	1,8	0	0,0	2	3,6
5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,3	1	2,3
6	3	2,5	0	0,0	2	1,7	3	2,5	15	12,5	0	0,0	5	4,2
7	9	28,1	0	0,0	0	0,0	1	3,1	6	18,8	1	3,1	0	0,0
8	7	19,4	0	0,0	1	2,8	3	8,3	3	8,3	1	2,8	2	5,6
9	3	10,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	6,9	0	0,0	0	0,0
10	2	6,7	2	6,7	3	10,0	2	6,7	2	6,7	0	0,0	1	3,3
11	2	5,9	1	2,9	2	5,9	2	5,9	2	5,9	0	0,0	1	2,9
12	6	10,9	1	1,8	1	1,8	2	3,6	2	3,6	1	1,8	4	7,3

(continuação da Tabela 16)

Amostras >VL por Piscina	Parâmetros microbiológicos													
	Microorganismos a 37°C		Bactérias coliformes		Coliformes fecais/ <i>E.coli</i>		Enterococos		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Estafilococos coagulase (+)		Nº total de Estafilococos	
	VL= 100 UFC/1mL	Nº %	VL= 10 UFC/100mL	Nº %	VL= 0 UFC/100mL	Nº %	VL= 0 UFC/100mL	Nº %	VL= 0 UFC/100mL	Nº %	VL= 0 UFC/100mL	Nº %	VL= 20 UFC/100mL	Nº %
13	1	1,3	0	0,0	0	0,0	1	1,3	1	1,3	0	0,0	2	2,6
14	1	1,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	2,9	0	0,0	2	2,9
15	3	4,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	2,9	2	2,9
16	0	0,0	0	0,0	1	2,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	4,5
17	0	0,0	0	0,0	1	2,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	4,1
18	1	1,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	4,6
19	1	1,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	12	20,7
20	2	8,3	3	12,5	2	8,3	2	8,3	1	4,2	0	0,0	1	4,2
21	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,9
22	1	1,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,8
23	1	2,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	6	16,7
24	1	2,9	1	2,9	2	5,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	8,6
25	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,9
26	3	5,5	0	0,0	0	0,0	1	1,8	0	0,0	0	0,0	4	7,3
27	3	4,8	1	1,6	0	0,0	1	1,6	4	6,3	1	1,6	2	3,2
28	3	4,8	0	0,0	0	0,0	1	1,6	3	4,8	1	1,6	3	4,8
29	3	1,8	0	0,0	1	0,6	0	0,0	1	0,6	0	0,0	0	0,0
30	5	3,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,6	0	0,0	1	0,6
31	0	0,0	0	0,0	1	2,2	0	0,0	2	4,3	0	0,0	1	2,2
32	0	0,0	1	2,3	1	2,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

VL, valor limite.

### 3.4 Avaliação da qualidade microbiológica ao longo do período de estudo.

De um modo geral, a qualidade microbiológica das águas das piscinas do Distrito de Aveiro não variou muito entre 2004 e 2010 (Figura 11).

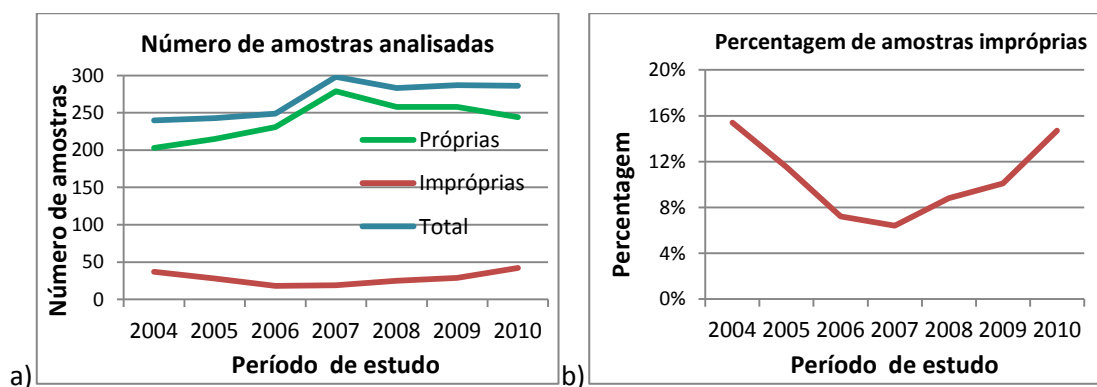


Figura 11: a) Classificação microbiológica das águas das piscinas do Distrito de Aveiro entre 2004 e 2010. b) Percentagem de amostras classificadas como impróprias entre 2004 e 2010.

No primeiro ano do período de estudo (2004) verificou-se que 37 (15,4%) das águas analisadas foram classificadas como impróprias. Foi neste ano que se observou a maior percentagem de águas impróprias. Nos 3 anos seguintes a percentagem de águas impróprias diminuiu, registando-se valores de 6,4% em 2007. Nos anos seguintes este valor subiu ligeiramente observando-se em 2010 uma percentagem de impróprias de 14,7% (Figura 11). Não se observou uma diferença significativa da qualidade microbiológica da água ao longo do período de estudo (Teste Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ).

A percentagem de amostras com teor de cloro residual livre inferior ao VL foi maior em 2004 e 2010, quando foram observadas também as maiores percentagens de águas impróprias (Figura 12). A percentagem de amostras com teor de cloro residual livre superior ao VL aumentou ao longo do período de estudo, de 28,3% em 2004 para 39,5% em 2010. A maior parte das amostras apresentaram, no entanto, um teor de cloro residual livre dentro dos valores recomendados (Figura 12).

Observou-se uma variação significativa dos teores de cloro residual livre ao longo do período de estudo (Teste Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ).

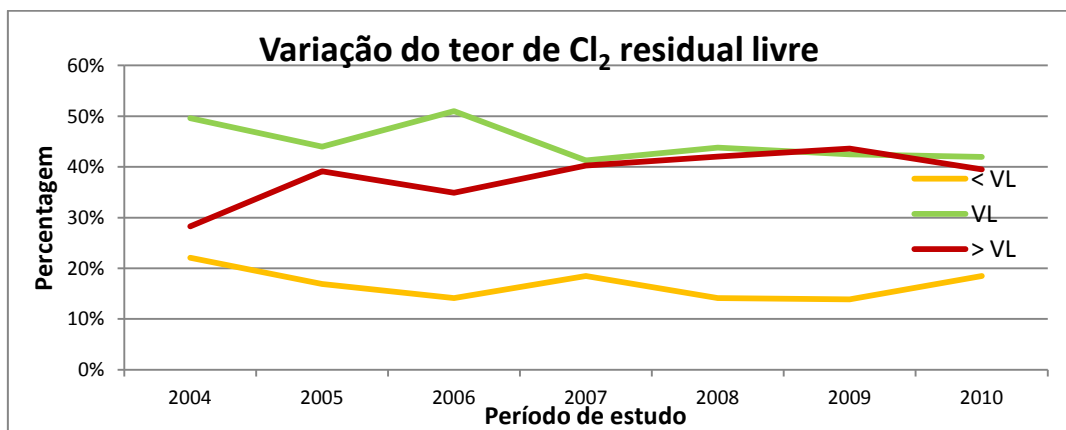


Figura 12: Variação da percentagem de teor de Cloro residual livre entre 2004 e 2010. VL, valor limite.

### 3.5 Avaliação da qualidade microbiológica de piscinas desinfetadas com cloro e com radiação ultravioleta

A percentagem de amostras classificadas como microbiologicamente impróprias variou muito de piscina para piscina, contudo, a percentagem média de amostras

impróprias nas 32 piscinas estudada foi de 10,5%. A percentagem média de amostras impróprias nas 13 piscinas que utilizaram a radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção foi de 8,5%. A percentagem média de amostras impróprias nas 19 piscinas em que não foi utilizada a radiação ultravioleta foi de 11,8% (Figura 13).

Onze das 19 piscinas em que não foi utilizada a radiação ultravioleta como tratamento complementar observou-se uma percentagem de amostras impróprias acima dos 10%, só 4 das piscinas em que foi usada a radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção da água obtiveram uma percentagem de amostras impróprias superior a 10% (Figura 13).

Analisando os dados podemos dizer que, existem diferenças significativas na classificação microbiológica das amostras de água provenientes de piscinas que utilizam a radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção e as que não utilizam (Teste Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ).

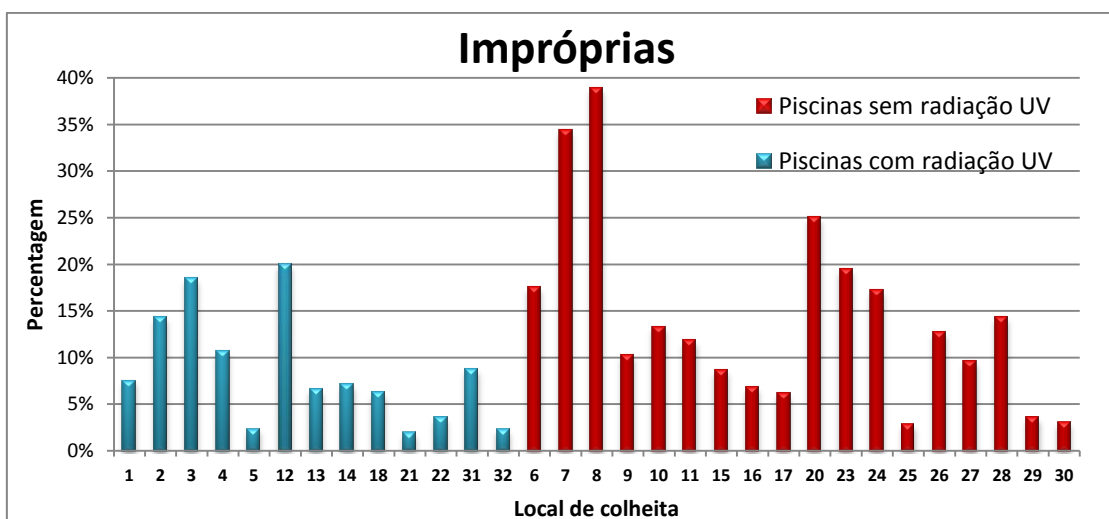


Figura 13: Variação da percentagem de amostras classificadas microbiologicamente como próprias segundo a utilização de radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção.

A percentagem de amostras com teores de cloro residual livre dentro do VL é superior nas piscinas que utilizam a radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção da água em comparação com as piscinas que não utilizam este tratamento complementar (Tabela 17). A média dos teores de cloro residual livre foi, contudo semelhante,  $1,71 \text{ mgL}^{-1}$  nas piscinas que utilizam a radiação ultravioleta e  $1,74 \text{ mgL}^{-1}$  nas piscinas que não utilizam a radiação ultravioleta. A correlação entre os teores

de cloro residual livre e a utilização ou não da radiação ultravioleta não é significativa (correlação de Pearson,  $p > 0,05$ ).

**Tabela 17: Relação entre o teor de cloro residual livre e a utilização ou não, nas piscinas, da radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção.**

Piscinas/Tratamento de desinfecção	Cloro residual livre					
	<VL		VL		>VL	
	nº	%	nº	%	nº	%
<b>com radiação ultravioleta</b>	86	<b>11,6</b>	374	<b>50,6</b>	280	<b>37,8</b>
<b>sem radiação ultravioleta</b>	231	<b>20,2</b>	468	<b>40,8</b>	447	<b>39,0</b>
<b>Total</b>	317	<b>16,8</b>	842	<b>44,7</b>	727	<b>38,5</b>

**VL, valor limite.**



## 4. Discussão/Conclusão

---

São muitos os perigos associados à utilização das piscinas, vigiar a qualidade das suas águas é fundamental pois permite-nos prevenir graves problemas de saúde pública.

Os resultados deste estudo permitem-nos concluir que (1), em geral, a qualidade da água das piscinas estudadas é boa (89,5% das amostras foram classificadas microbiologicamente como próprias); (2) a qualidade microbiológica das águas variou de acordo com o teor de cloro residual livre presente na água (foram classificadas como impróprias 25,6% das águas que apresentavam teores de cloro residual livre inferiores ao VL e 5,4% das águas com teores de cloro residual livre superiores ao VL); (3) dos parâmetros microbiológicos analisados o número total de estafilococos e os microrganismos a 37°C foram os que apresentaram maior percentagem de amostras superiores ao VL (4,0 e 3,6%, respetivamente); (4) quando os microrganismos indicadores ultrapassaram o VL nem sempre foram detetados microrganismos patogénicos com teores superiores ao VL e vice-versa; (5) *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos coagulase positiva e número total de estafilococos foram os parâmetros microbiológicos mais resistentes ao cloro (20,8 a 25,0% das amostras consideradas impróprias devido a estes microrganismos apresentavam teores de cloro residual livre superiores ao VL); (6) a qualidade microbiológica das águas variou de acordo com a piscina (piscina 7 e 8 apresentaram a pior qualidade e a piscina 21 a melhor qualidade); (7) a qualidade microbiológica das águas das piscinas não apresentou uma grande variação ao longo do período de estudo (no primeiro ano de estudo a percentagem de amostras impróprias foi de 15,4% e no ultimo foi de 14,7%); (8) a percentagem de amostras com teores de cloro residual livre superiores ao VL aumentou ao longo do período de estudo (de 28,3% em 2004 para 39,5% em 2010); (9) a utilização de radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção da água melhorou a qualidade das águas destas piscinas (a percentagem média de amostras impróprias foi de 8,5% em contraste com os 11,8% para as outras piscinas);

As amostras de água analisadas foram classificadas do ponto de vista microbiológico segundo a legislação em vigor tendo somente 10,5% das amostras ultrapassado os valores limite estabelecidos. Relativamente a outros estudos, as águas das piscinas do distrito de Aveiro apresentaram melhor qualidade microbiológica. Num estudo realizado às piscinas de Santa Cruz de Tenerife (Espanha), 86,8% das amostras analisadas não cumpriam as normas legais (Delgado *et al.* 1992). Em 1998 num estudo realizado por IBarluzea *et al.* (1998), das 781 amostras de água de piscinas analisadas 58,4% ultrapassaram o limite legislado (IBarluzea *et al.*, 1998). Outro estudo feito em Bologna (Itália), 34,2% das amostras das águas de piscinas analisadas ultrapassaram os valores recomendados (Leoni *et al.*, 1999). No estudo de Rabi *et al.* (2007) realizado no verão de 2005 em Amã (Jordânia), às águas das piscinas públicas desta cidade mostrou que 94,7% das amostras estavam acima do valor limite de coliformes fecais (Rabi *et al.*, 2007).

A água das piscinas necessita de ser desinfetada de forma a minimizar os riscos de contaminação microbiana. Níveis baixos ou inexistentes de desinfetante na água contribuem para o desenvolvimento de microrganismos na água de piscinas (Bernal e Cabello, 2001; Pedroso e Nogueira, 2003; Pedroso, 2005; Rabi *et al.*, 2007, Marina *et al.*, 2007; Bernard *et al.* 2009; Kanan e Karanfil, 2011; Legay *et al.*, 2010).

A Circular Normativa 14/DA (2009) estabelece como valores de cloro residual livre nas águas de piscina entre 0,5 a 1,2 mgL<sup>-1</sup> para teores de pH entre 6,9 e 7,4 ou 1,0 a 2,0 mgL<sup>-1</sup> para teores de pH entre 7,5 e 8 (Circular Normativa 14/DA, 2009).

A qualidade microbiológica das águas de piscinas variou de acordo com o valor de cloro residual livre presente na água. A percentagem de amostras classificadas como impróprias quando os teores de cloro residual livre foram inferiores ao valor limite foi maior que a percentagem de amostras classificadas como impróprias quando os teores de cloro foram superiores ao VL. Por outro lado, em 2004 foi registada a maior percentagem de águas impróprias e foi também neste ano que a percentagem de amostras com teores de cloro residual livre superior ao VL foi menor (a percentagem de amostras impróprias foi de 15,4% e a percentagem de amostras com teores de cloro residual livre superior ao VL foi de 28,3%).

Outros estudos também têm mostrado esta tendência, relação inversa entre os teores de cloro residual livre presente na água das piscinas e o número de microrganismos presentes nestas águas. Um estudo realizado em piscinas do sul da Austrália revelou que à medida que os teores de cloro residual livre aumentou, aumentou também a percentagem de análises bacteriologicamente aceitáveis, tendo sido alcançada a percentagem de 100% para todos os parâmetros pesquisados (*P. aeruginosa*, *Naegleria* spp., *amoeba*), a partir de teores de cloro residual livre  $\geq 4 \text{ mgL}^{-1}$  (Esterman *et al.*, 1984). Estudos mais recentes também mostraram esta tendência registrando percentagens de amostras bacteriologicamente impróprias muito reduzidas quando os níveis de cloro residual livre foram superiores a  $1 \text{ mgL}^{-1}$  (Ibarluzea *et al.*, 1998; Leoni *et al.*, 1999; Doménech-Sanchez *et al.*, 2008). Contudo, existem microrganismos que conseguem sobreviver na água de piscinas mesmo com níveis adequados de desinfetante (Beleza *et al.* 2007).

Para evitar problemas graves de saúde para os banhistas é fundamental realizar a desinfecção da água das piscinas, contudo, concentrações elevadas de desinfetantes podem contribuir também para graves problemas de saúde dos banhistas e trabalhadores. Isto porque, os desinfetantes reagem com a matéria orgânica existente na água das piscinas formando subprodutos, a grande maioria, potencialmente cancerígenos (Agabiti *et al.*, 2001; Panyakapo *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2007; Villanueva *et al.*, 2007; Thomas e Murray 2008; Lee *et al.*, 2009; Bernard *et al.*, 2009; Richardson *et al.*, 2010; Font-Riviera *et al.*, 2010; Kanan e Karanfil, 2011; Wu *et al.*, 2011). Estudos recentes associam estes subprodutos a diversos problemas de saúde, relacionando-os com efeitos adversos na reprodução (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2000; Kanan e Karanfil, 2011), cancro de bexiga (Villanueva *et al.*, 2007) e problemas respiratórios (Bernard *et al.*, 2009; Marina *et al.*, 2009). Desta forma é fundamental formar os funcionários das piscinas para que estes estejam conscientes dos riscos que a concentração elevada de cloro pode provocar tanto para a sua saúde como para a dos banhistas.

O aumento gradual ao longo do período de estudo da percentagem de amostras com cloro residual livre superiores ao VL, alertam-nos para a necessidade de sensibilização das entidades responsáveis pelas piscinas para os riscos inerentes a este

facto. Uma formação adequada de todos os responsáveis e funcionários destas piscinas contribuem para a melhoria das suas condições de trabalho e da qualidade da água, favorecendo a sua saúde e a dos banhistas. Esta formação é urgente especificamente para os responsáveis e funcionários da piscina 30. A piscina 30 apresentou teores de cloro residual livre muito superiores ao legislado (10 amostras provenientes desta piscina ultrapassaram os  $10 \text{ mgL}^{-1}$  de cloro residual livre, quando o teor legislado se situa entre 0,5 a  $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ , dependendo do valor de pH).

Para podermos avaliar a qualidade bacteriológica da água de piscinas, como é impossível identificar todos os microrganismos patogénicos presentes na água, através de uma análise, a monitorização das águas de piscina é realizada recorrendo a pesquisa de microrganismos indicadores de poluição e alguns patogénicos, uma vez que a ausência de microrganismos indicadores não garante a inexistência de microrganismos patogénicos (Barrell *et al.*, 2000; Ashbolt *et al.*, 2001; Mendes e Oliveira, 2004; Briancesco, 2005; WHO, 2006, Cabral, 2010; Cappello, 2011). Neste estudo dos parâmetros microbiológicos analisados os microrganismos a  $37^{\circ}\text{C}$  (3,6%) e o número total de estafilococos (4,0%) foram os que mais contribuíram para a má classificação das águas de piscinas.

Os microrganismos a  $37^{\circ}\text{C}$  são um dos indicadores de poluição mais usados em piscinas, a sua presença permite detetar possíveis falhas de higiene da piscina e controlar a eficiência do sistema de desinfecção da água (Esterman *et al.*, 1984; Delgado *et al.*, 1992; Vesaluoma *et al.*, 1995; Martins *et al.*, 1995; Ibarluzea *et al.*, 1998; Pina, 1998; Leoni *et al.*, 1999; Barrell *et al.*, 2000; Chapuis *et al.*, 2004; WHO, 2006; Nikaeen *et al.*, 2009; Cappello, 2011). Um estudo realizado em piscinas, na América do sul, mostrou que os microrganismos a  $37^{\circ}\text{C}$  e os coliformes totais são bons indicadores da qualidade de higiene da água de piscina, lembrando que a sua pesquisa é realizada de uma forma simples e rápida (Martins *et al.*, 1995).

O número total de estafilococos corresponde à soma do teor de estafilococos coagulase positiva com o teor de estafilococos coagulase negativa. Como a maioria dos estafilococos têm origem em feridas da pele ou secreções da boca ou nariz, a pesquisa destes permite detetar a presença de contaminação não fecal. A sua pesquisa é realizada à superfície, pois é aí onde estes microrganismos sobrevivem durante mais

tempo, devido à camada oleosa que aí se forma, como resultado das loções, cremes e sujidade transportada para a água pelos banhistas. Os estafilococos são 5 a 20 vezes mais resistentes aos desinfetantes em relação aos coliformes e enterococos (Alico e Dragonjac 1986; Beleza *et al.*, 2007). A sua pesquisa é importante pois quando presentes na água de piscinas podem originar várias doenças, como rinofaringites, otites ou infeções de pele (Favero *et al.*, 1964; Crone e Tee, 1974; Alico e Dragonjac, 1986; Delgado *et al.*, 1992; Martins *et al.*, 1995; Ibarluzea *et al.*, 1998; Pina, 1998; WHO, 2006; Beleza *et al.*, 2007).

Neste estudo, verificou-se que na maior parte dos casos em que foram detetados microrganismos indicadores acima do VL nas águas das piscinas, os microrganismos patogénicos não estavam presentes. As amostras que apresentaram teores superiores ao VL para o indicador enterococos foram as que apresentaram percentagens mais elevadas de microrganismos patogénicos com teores superiores ao VL (37,5% *Pseudomonas aeruginosa*; 20,8% número total de estafilococos; 12,5% estafilococos coagulase positiva). Estes resultados sugerem que dos indicadores estudados os enterococos são os melhores indicadores da presença dos microrganismos patogénicos pesquisados em águas de piscina. Observou-se, contudo, que quando os microrganismos indicadores apresentaram teores abaixo do VL, os microrganismos patogénicos frequentemente ultrapassaram o VL. De todos os microrganismos patogénicos o número total de estafilococos foi o parâmetro que mais frequentemente ultrapassou o seu VL (20 UFC/100 mL) quando os microrganismos indicadores apresentam teores inferiores ao VL (52,7% microrganismos a 37°C; 40,7% coliformes fecais/*E. coli*; 40,2 % Enterococos; 38,3% bactérias coliformes). Estes resultados indicam que é importante pesquisar/quantificar os microrganismos patogénicos para avaliar a qualidade microbiológica das águas de piscina.

Das amostras, deste estudo classificadas microbiologicamente como impróprias devido à presença de *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos coagulase positiva e o número total de estafilococos, 20,8 a 25,0% apresentavam teores de cloro residual livre superiores ao VL. O crescimento destes microrganismos na presença de teores elevados de cloro residual livre pode resultar do facto destes 3 parâmetros serem

analisados na água de superfície onde, devido às secreções libertadas pelos banhistas, se forma uma película que impede a penetração do cloro (Beleza et al., 2007).

*Pseudomonas aeruginosa* tem sido identificada com regularidade em águas de piscinas e muitas vezes com percentagens altas de inconformidade (Esterman et al., 1984; Ibarluzea et al., 1998; Price e Ahearn, 1998; Vesaluoma et al., 1995; Tate et al., 2003; Hajjartabar, 2004; Reali et al., 2004; Doménech-Sánchez et al., 2008; Guida et al., 2009; Al-Khatib e Ghannam, 2011). Um estudo publicado recentemente identificou a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em águas de piscinas e na canalização da água quente mesmo quando a água apresentava níveis de cloro elevados. Em 25% das análises de uma das piscinas em estudo, foi detetada a presença de *Pseudomonas aeruginosa* apesar dos níveis de cloro residual serem de 6,5 mgL<sup>-1</sup> (Lutz e Lee, 2011).

Crone e Tee (1974) mostraram que os *Staphylococcus* são bons indicadores de contaminação das águas de piscinas devido à sua capacidade de resistir ao cloro (Crone e Tee, 1974). Esta capacidade tem sido referenciada em estudos posteriores (Ibarluzea et al., 1998; Rigas et al., 1998; Al-Khatib e Salah, 2003). Num estudo realizado no Brasil em 2009 foram isolados *Staphylococcus* em amostras com concentrações de cloro entre 3,7 e 4,2 mgL<sup>-1</sup> (Sueitt, 2009).

Das 32 piscinas analisadas neste estudo algumas destacaram-se por apresentarem águas com qualidade superior à média, mas outras sobressaíram por apresentarem uma percentagem de águas impróprias muito superior à média. A piscina que apresentou melhor qualidade foi a 21 com 1,9% de amostras impróprias, não apresentava amostras com teores de cloro residual inferiores ao VL, tendo 71,7% destas apresentado teores de cloro residual livre dentro do VL. Esta piscina utiliza também a radiação ultravioleta como tratamento complementar de desinfecção. Com uma média de 700 utilizadores por semana, nesta a concentração de cloro e pH são controlados diariamente e os filtros são lavados diariamente. Estes fatores contribuem para a boa qualidade das suas águas. Uma boa filtração facilita a desinfecção e diminui os consumos de desinfetantes, contribuindo para a qualidade da água de forma a que esta não se torne num risco para os utilizadores da piscina (Beleza et al., 2007).

As piscinas 7 e 8 foram as que apresentaram maior percentagem de amostras impróprias, 34,4 e 38,9%, respetivamente. Estas apresentaram também a maior

percentagem de amostras com teores de cloro residual livre inferiores ao VL, 53,1 e 66,7%, respetivamente e a percentagem mais elevada de amostras contaminadas por *Pseudomonas aeruginosa*. Estas duas piscinas têm uma média de utilizadores semanal superior à média geral e utilizam o cloro como único tratamento de desinfecção. A lavagem dos filtros é feita semanalmente e não existe purga para o esgoto entre a descarga superficial e o tanque de compensação. A verificação da concentração de cloro é realizada duas vezes por dia, contudo, esta não é acompanhada pela verificação do pH, pelo que é difícil manter um teor residual de cloro constante. O número elevado de utilizadores, a insuficiente lavagem dos filtros e a constante variação dos níveis de cloro contribuem para a degradação da qualidade da água destas piscinas. O grau de dissociação do cloro depende do pH, quando o pH apresenta valores inferiores a 6 existe uma fraca dissociação, esta é quase completa quando os valores de pH se situam entre 6,5 e 8,5. Este facto revela a importância do controlo do pH de forma a garantir uma boa desinfecção da água (Nemery *et al.*, 2002; Pedroso e Nogueira, 2003; WHO, 2006; Lee *et al.*, 2009; Nikaeen *et al.*, 2009).

Ao longo do período de estudo não existiu uma grande variação da qualidade microbiológica da água, a percentagem de amostras impróprias em 2004 foi de 15,4% e em 2010 foi de 14,7%.

Durante estes anos de estudo, em Portugal, não foram realizadas grandes alterações a nível legislativo de forma a contribuir para melhorar ou piorar a qualidade das águas das piscinas. Em 2009, a Direcção Geral de Saúde publicou a Circular Normativa 14/DA onde estabelece um programa de vigilância sanitária para piscinas públicas, semi-públicas e de hidroterapia. Esta normativa teve como objetivo uniformizar os procedimentos relativos à vigilância sanitária de piscinas e indicar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos a analisar (Circular Normativa 14/DA, 2009). A publicação desta normativa foi fundamental, pois até à data e devido a inexistência de legislação adequada a estes estabelecimentos eram utilizadas as recomendações descritas no Decreto Regulamentar nº 5/97 que estabelece as normas técnicas para os Recintos com Diversões Aquáticas/Parques Aquáticos. Contudo esta publicação manteve quase sem qualquer alteração os parâmetros microbiológicos e físico-químicos do Decreto Regulamentar nº 5/97, não houve assim influência nos resultados da qualidade microbiológica das águas.

Apesar do cloro ser o químico mais utilizado como desinfetante da água em piscinas, por ter uma taxa de eficiência elevada e ser um dos produtos mais baratos, têm-se vindo a ser usados novos métodos de desinfecção alternativos. São muitos os estudos que alertam para os problemas associados à utilização de desinfetantes químicos, uma vez que estes reagem com a matéria orgânica existente na água e dão origem a subprodutos, que são na maioria potencialmente cancerígenos (Thacker e Nitnaware, 2003; Wang *et al.*, 2007; Villanueva *et al.*, 2007; Colmenares *et al.*, 2008; Panyakapo *et al.*, 2008; Marina *et al.*, 2009; Font-Ribera *et al.*, 2010; Legay *et al.*, 2010; Richardson *et al.*, 2010; Kogevinas *et al.*, 2010; Florentin *et al.*, 2011; Kanan e Karanfil *et al.*, 2011).

A radiação ultravioleta permite tratar a água de recirculação das piscinas não deixando qualquer resíduo de desinfetante, o que torna a água menos irritante para os banhistas, mas é sempre necessário aplicar outro desinfetante para manter um resíduo na água. A utilização de radiação ultravioleta permite reduzir o cloro injetado na água bem como a taxa de renovação da água, mantendo a qualidade bacteriológica da água (Cassan *et al.*, 2006; Barbot e Moulin, 2008).

Neste estudo as 13 piscinas que utilizam a radiação ultravioleta como método de desinfecção complementar mostram uma percentagem média de amostras impróprias menor (8,5%) que as 19 piscinas que não utilizam este método complementar de desinfecção.

Nas piscinas com tratamento por radiação ultravioleta a percentagem de amostras que ultrapassaram o VL de cloro residual livre foi menor que a das piscinas que não utilizaram a radiação ultravioleta. As 13 piscinas que utilizam a radiação ultravioleta apresentaram também uma maior percentagem de amostras com teores de cloro residual dentro do VL, comparada quer com a percentagem geral ou a percentagem das restantes 19 piscinas que não utilizam a radiação ultravioleta como tratamento complementar. Apresentaram, contudo, médias de cloro residual livre semelhantes ( $1,71 \text{ mgL}^{-1}$ , piscinas com radiação ultravioleta;  $1,74 \text{ mgL}^{-1}$ , piscinas sem radiação ultravioleta). Estes resultados demonstram que apesar da utilização da radiação ultravioleta permitir reduzir os níveis de cloro injetados na água as entidades responsáveis destas piscinas ainda não estão sensibilizadas para este facto.



Apesar da qualidade microbiológica das águas das piscinas do Distrito de Aveiro ser, no geral, aceitável, é necessário alterar o tratamento das águas das piscinas 7 e 8, devido à má qualidade microbiológica das suas águas, e da piscina 30, devido ao elevado teor de cloro residual livre na água, de forma a evitar a formação de produtos potencialmente cancerígenos nas suas águas.



## 5. Bibliografia

---

**Agabiti, N; Ancona, C; Forastiere, F; Napoli, A; Presti, E; Corbo, G; Orsi, F; Perucci, C. (2001).** Short term respiratory effects of acute exposure to chlorine due to a swimming pool accident. *Occup Environ Med*; 58 , pp. 399-404.

**Alico, R., & Dragonjac, M. (1986).** Evaluation of Culture Media for Recovery of *Staphylococcus aureus* from Swimming Pools. *Applied and Environmental Microbiology* , 51, pp. 699-702.

**Al-Khatib, I., & Ghannam, R. (2011).** Microbiological water quality and sampling policy of public swimming pools. *International Journal of Environmental Engineering* , 3 (2), pp. 192-204.

**Al-Khatib, I., & Salah, S. (2003).** Bacteriological and chemical quality of swimming pools water in developing countries: a case study in the West Bank of Palestine. *International Journal of Environmental Health Research* , 13, pp. 17-22.

**American Medical Association. (2004).** Nonfatal and Fatal Drownings in Recreational Water Settings - United States, 2001-2002. *JAMA* , 292, pp. 164-166.

**American Public Health Association. (1998).** *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20 ed.). Washington: APHA.

**Angenent, L., Kelley, S., Amand, A., Pace, N., & Hernandez, M. (2005).** Molecular identification of potential pathogens in water and air of a hospital therapy pool. *PNAS* no.13 , 102, pp. 4860-4865.

**Arruda, E. (1998).** Infecção Hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente: análise epidemiológica no HC-FMUSP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* , 31(5), pp. 503-504.

**Artieda, J., Piñero, L., González, M., Muñoz, M., Basterrechea, M., Iturzeata, M., Cilla, G. (2009).** A swimming pool - related outbreak of pharyngoconjunctival fever in children due to Adenovirus Type 4, Gipuzkoa, Spain, 2008. *Eurosurveillance. Issue 8 , 14*, pp. 6-8.

**Ashbolt, N., Schoen, M., Soller, J., & Roser, D. (2010).** Predicting pathogen risks to aid beach management: The real value of quantitative microbial risk assessment (QMRA). *Water Research 44* , pp. 4692-4703.

**Barbot, E., & Moulin, P. (2008).** Swimming pool water treatment by ultrafiltration-adsorption process. *Journal of Membrane Science 314* , pp. 50-57.

**Bernard, A., Nickmilder, M., Voisin, C., & Sardella, A. (2009).** Impacto de la asistencia a una piscina con agua clorada sobre la salud respiratoria de los adolescentes. *Pediatrics 68(4)* , pp. 189-197.

**Barrell, R., Hunter, P., & Nichols, G. (2000).** Microbiological standards for water and their relationship to health risk. *Communicable Disease and public Health , 3*, pp. 8-13.

**Bastian, T., & Brondum, J. (2009).** Do Traditional Measures of Water Quality in Swimming Pools and Spas Correspond with Beneficial Oxidation Reduction Potential? *Public Health Reports , 124*, pp. 255-261.

**Beleza, V., Santos, R., & Pinto, M. (2007).** *Piscinas - Tratamento de águas e utilização de energia*. Politema.

**Bernal, M., & Cabello, C. (2001).** *Recomendaciones Higiénico Sanitarias en piscinas de uso colectivo*. Sevilla: Consejería de Salud de la Junta de Andalucía.

**Borgmann-Strahsen, R. (2003).** Comparative assessment of different biocides in swimming pool water. *International Biodeterioration & biodegradation 51* , pp. 291-297.

**Briancesco, R. (2005).** Indicatori microbiologici e valutazione della qualità delle acque superficiali. *Ann Ist Super Sanità , 41(3)*, pp. 353-358.

**Cabral, J. (2010).** Water Microbiology Bacterial Pathogens and Water. *International Journal of Environment Reserarch and Public Health*.7 , pp. 3657-3703.

**Cappello, M. (2011).** assessing Bacteriological Contamination in Public Swimming Facilities Within a Colorado Metropolitan Community. *Journal of Environmental Health* , 73, pp. 19-25.

**Casellas, S., & Sabater, F. (2004).** Otitis externa ("otitis de las piscinas"). *Jano* , LXVII, pp. 46-52.

**Cassan, D., Mercier, B., Castex, F., & Rambaud, A. (2006).** Effects of medium-pressure UV lamps radiation on water quality in a chlorination indoor swimming pool. *Chemosphere* 62 , pp. 1507-1513.

**Caumo, K., & Rott, M. (2011).** Acanthamoeba T3, T4 and T5 in swimming-pool waters from Southern Brazil. *Ata Tropica* 117 , pp. 233-235.

**Center for Disease Control (CDC). (19 de Maio de 2008).** *Cases Of Recreational Water Illnesses On The Rise*. Obtido em 29 de 10 de 2011, de CDC Online Newsroom: <http://www.cdc.gov/media/pressrel/2008/r080519.htm>

**Center for Disease Control (CDC). (2011).** Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks and Other Health Events Associated with Recreational Water —United States, 2007–2008 and Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks Associated with Drinking Water — United States, 2007–2008. *Surveillance Summaries* , 60, pp. 1-80.

**Chapuis, C., Gardes, S., & Tasseau, F. (2004).** Gestion des risques infectieux liés aux piscines et bains collectifs à usage médical. *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique* 47 , pp. 233-238.

**Circular Informativa nº 31/DA** (Direção Geral de Saúde 20 de Agosto de 2009).

**Circular Normativa nº 14/DA** (Direção Geral de Saúde 21 de agosto de 2009).

**Coetzee, N., Edeghere, O., Orendi, J., Chalmers, R., & Morgan, L. (2008).** A swimming pool-associated outbreak of cryptosporidiosis in Staffordshire, England, October to December 2007. *Eurosurveillance. Issue 45 , 13*, pp. 1-3.

**Colmenares, M., Soto, A., & Sousa, C. (2008).** Evaluación de la calidad fisicoquímica y bacteriológica en piscinas del estado Carabobo, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental , XLVIII*, pp. 73-82.

**Correia, I. (2000).** Pseudomonadaceae. Pseudomonas. In W. Ferreira, & J. Sousa, *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 123-134). Lidel.

**Costa, M. (2000).** Streptococcus e Outros cocos Gram Positivos Associados. In W. Ferreira, & J. Sousa, *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 51-61). Lidel.

**Cristino, J. (2000).** Staphylococcus. In W. Ferreira, & J. Sousa, *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 39-49). Lidel.

**Crone, P., & Tee, G. (1974).** Staphylococci in swimming pool water. *Journal of Hygiene, 73* , pp. 213-220.

**Decreto 23/1999** Reglamento Sanitario de las Piscinas de Uso Coletivo (Consejería de Salud 25 de Março de 1999).

**Decreto Regulamentar nº 5/97** (Diario República, Série I-B, nº 75: 31 de março de 1997).

**Delgado, M., García, A., Hormigo, A., & Torre, A. (1992).** Analisis Microbiologico y Fisicoquimico del agua de Piscinas de La Isla de Tenerife. *Rev San Hig Púb, 66 , 66*, pp. 281-289.

**Diegues, P., & Martins, V. (2006).** Notas Técnicas e Operativas sobre Piscinas e Spas.

**Diretiva CNQ nº 23/93** (Concelho Nacional da Qualidade 24 de maio de 1993).

**Diretoria de Saúde Ambiental. (2007).** Facts about Pseudomonas aeruginosa in Swimming and Spa Pools. *Guia de Saúde Ambiental . Australia.*

**Doménech-Sánchez, A., Olea, F., & Berrocal, C. (2008).** Infecciones relacionadas con las aguas de recreo. *Enferm Infecc Microbiol Clin*;26 Supl 13 , pp. 32-37.

**Esterman, A; Roder, D; Camaron, A; Robinson, B; Walters, R; Lake, J; Christy, P. (1984).** Determinants of the Microbiological Characteristics of South Australian Swimming Pools. *Applied and Environmental Microbiology* , 47, pp. 325-328.

**Esteves, A., & Pacheco, P. (2009).** *Jacúzis - manual das boas práticas para controlo de riscos*. Departamento de Saúde Pública - Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo.

**Faria, A. (12-13 de fevereiro de 2009).** Evolução do enquadramento normativo nas piscinas. *IV Encontro Saúde em Piscinas* , 1-13. Lisboa.

**Faustini, A., Fano, V., Muscillo, M., Zaniratti, S., La Rosa, G., Tribuzi, L., Perucci, C. (2006).** An outbreak of aseptic meningitis due to echovirus 30 associated with attending school and swimming in pools. *International Journal of Infectious Diseases* , 10, pp. 291-297.

**Filho, L., Levi, J., Bento, C., Rodrigues, J., & Ramos, S. (2001).** Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis outpatient clinic . *J. Med. Microbiol.* , 50, pp. 261-267.

**Florentin, A., Hautemanière, A., & Hartemann, P. (2011).** Health effects of disinfection by-products in chlorinated swimming pools . *International Journal of Hygiene and Environmental Health*2011 .

**Font-Ribera, L., Esplugues, A., Ballester, F., Martínez-Arguelles, B., Tardón, A., Freire, C., Fernández, M., Carrasco, G., Cases, A., Sunyer, J., Villanueva, C. (2010).** Trihalometanos en el agua de piscinas en cuatro zonas de España participantes en proyecto INMA. *Gac. Sanit.* 24(6) , pp. 483-486.

**Font-Ribera, L., Villanueva, C., Nieuwenhuijsen, M., Zock, J.-P., Kogevinas, M., & Henderson, J. (2011).** Swimming Pool Attendance, Asthma, Allergies, and Lung Function in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children Cohort. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* , 183, pp. 582-588.

**Guida, M., Gallè, F., Mattei, M., Anastasi, D., & Liguori, G. (2009).** Microbiological quality of the water of recreational and rehabilitation pools: a 2-year survey in Naples, Italy. *Public Health* 123 , pp. 448-451.

**Hajjartabar, M. (2004).** Poor-quality water in swimming pools associated with a substantial risk of otitis externa due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Water Sci Technol* , 50(1), pp. 63-67.

**Health Protection Agency (HPA). (2005).** *The microbiological examination of water samples*. Obtido de National Standard Method QSOP 57 Issue 2: [http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf\\_sops.asp](http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp).

**Ibarluzea, J., Moreno, B., Zigorraga, C., Castilla, T., Martinez, M., & Santamaria, J. (1998).** Determinants of the microbiological water quality of indoor swimming-pools in relation to disinfection. *Pergamon* , 32, pp. 865-871.

**Instituto Português da Qualidade. (1998).** NP 4343:1998.

**International Organization for Standardization (ISO). (2001).** ISO 12780:2001.

**International Organization for Standardization (ISO). (1999).** ISO 6222:1999.

**International Organization for Standardization (ISO). (2000).** ISO 9308-1:2000.

**International Organization for Standardization (ISO). (2000).** ISO 7899-2:2000.

**Isaac-Marquez, A., Lezama-Dávila, C., Ku-Pech, P., & Tamay-Segovia, P. (1994).** Calidad Sanitaria de los suministros de água para consumo humano en Campeche. *Salud Pública de México* , 36, pp. 655-661.



**Kanan, A., & Karanfil, T. (2011).** Formation of disinfection by-products in indoor swimming pool water: The contribution from filling water natural organic matter and swimmer body fluids. *Water Research* 45 , pp. 926-932.

**Kogevinas, M; Villanueva, C; Font-Ribera, L; Liviach, D; Bustamante, M; Espinoza, F; Nieuwenhuijsen, M; Espinosa, A; Fernandez, P; DeMarini, D; Grimalt, J; Grummt, T; Marcos, R. (2010).** Genotoxic Effects in Swimmers Exposed to Disinfection By-products in Indoor Swimming Pools. *Environmental Health Perspectives* , 118, pp. 1531-1537.

**Koschel, D., Pietrzyk, C., Sennekamp, J., & Müller-Wening, D. (2006).** Schwimmbadlunge - Exogen-allergische Alveolitis oder Mykobakteriose? Fallbericht und Literaturübersicht. *Pneumologie* , pp. 285-289.

**Lee, J., Ha, K.-T., & Zoh, K.-D. (2009).** Characteristics of trihalomethane (THM) production and associated health risk assessment in swimming pool waters treated with different disinfection methods. *Science of the Total Environment* 407 , pp. 1990-1997.

**Legay, C., Rodriguez, M., Sadiq, R., Sérodes, J., Levallois, P., & Proulx, F. (2010).** Spatial variations of human health risk associated with exposure to chlorination by-products occurring in drinking water. *Journal of Environmental Management* , pp. 1-10.

**Leoni, E., Legnani, P., Bucci Sabattini, M., & Righi, F. (2001).** Prevalence of Legionella Spp. in Swimming pool environment. *Water Research*. No.15 , 35, pp. 3749-3753.

**Leoni, E., Legnani, P., Guberti, E., & Masotti, A. (1999).** Risk of infection associated with microbiological quality of public swimming pools in Bologna, Italy. *Public Health* 113 , pp. 227-232.

**Liviach, D., Wagner, E., Mitch, W., Altonji, M., & Plewa, M. (2010).** Genotoxicity of Water Concentrates from Recreational Pools after Various Disinfection Methods. *Environmental Science & Technology* , 44, pp. 3527-3532.

**Lumb, R., Stapledon, R., Scroop, A., Bond, Peter., Cunliffe, D., Goodwin, A., Doyle, R., Bastian, I. (2004).** Investigation of Spa Pools Associated with Lung Disorders Caused by Mycobacterium avium Complex in Immunocompetent Adults. *Applied and Environmental Microbiology* , 70(8), pp. 4906-4910.

**Lutz, J., & Lee, J. (2011).** Prevalence and Antimicrobial-Resistance of Pseudomonas in Swimming Pools and Hot Tubs. *International Journal of Environmental Research and Public Health* , 8, pp. 554-564.

**Mahoney, F., Farley, T., Kenso, K., Wilson, S., Horan, J., & McFarland, L. (1992).** An Outbreak of Hepatitis A Associated with Swimming in a Public Pool. *Journal of Infectious Diseases* 165 (4) , pp. 613-618.

**Marina, L; Ibarluzea, J; Basterrechea, M; Goñi, F; Ulibarrena, E; Artieda, J; Orruño, I. (2009).** Contaminación del aire interior y del agua de baño en piscinas cubiertas de Guipúzcoa. *Gac Sanit.* 23(2) , pp. 115-120.

**Martin, M., Diego, P., Gil, E., & Ara, M. (2003).** Folliculitis por Pseudomonas aeruginosa. *Atas Dermosifiliogr* , 94(2), pp. 107-109.

**Martins, M., Sato, M., Alves, M., Stoppe, N., Prado, V., & Sanchez, P. (1995).** Assessment of Microbiological Quality for Swimming Pools in South America. *Pergamon 0043-1354(95)00063-1* , 29, pp. 2417-2420.

**McCarter, Y. (2009).** Infectious Disease Outbreaks on cruise Ships. *Clinical Microbiology Newsletter* 31:21 , pp. 161-168.

**Mendes, B., & Oliveira, J. (2004).** *Qualidade da água para consumo humano*. Lidel.

**Nemery, B., Hoet, P., & Nowak, D. (2002).** Indoor swimming pools, water chlorination and respiratory health. *European Respiratory Journal, ISSN 0903-1936* , pp. 790-793.

**Nicolau, C., & Oliver, A. (2010).** Carbapenemasas en especies del género Pseudomonas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* , 28 (Supl 1), pp. 19-28.

**Nieuwenhuijsen, M., Toledano, M., Eaton, N., Fawell, J., & Elliott, P. (2000).** Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *Occup Environ Med*, 57 , pp. 73-85.

**Nikaeen, M., Hatamzadeh, M., Vahid, M., & Hassanzadeh, A. (2009).** Predictive indicators of the safety of swimming pool waters. *Water Sci Technol* , 60(12), pp. 3101-3107.

**Pañella, H., Calzada, N., Beneyto, V., Valero, N., Gracia, J., & Rodríguez, P. (2010).** Legionelosis en un establecimiento considerado de bajo riesgo de proliferación. *Gac Sanit.* 24(6) , pp. 498-500.

**Panyakapo, M., Soontornchai, S., & Paopuree, P. (2008).** Cancer risk assessment from exposure to trihalomethanes in tap water and swimming pool water. *Journal of Environmental Sciences* 20 , pp. 372-378.

**Papadopoulou, C., Economou, V., Sakkas, H., Gousia, P., Giannakopoulos, X., Dontorou, C., Filioussis, G., Gessouli, H., Karanis, P., Leveidiotou, S. (2008).** Microbiological quality of indoor and outdoor swimming pools in Greece: Investigation of the antibiotic resistance of the bacterial isolates. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 211 , pp. 385-397.

**Pedroso, M. (2005).** Exposição Profissional em Piscinas cobertas. *Boletim do Centro Regional de Saúde Pública do Centro*, Nº 5 , pp. 10-18.

**Pedroso, M., & Nogueira, J. (2003).** *Perigos decorrentes da utilização de Piscinas - Uniformização das ações de vigilância sanitária a piscinas.* Centro Regional de Saúde Pública do Centro.

**Pina, A. (1998).** *Piscinas Qualidade da Água.* Obtido em 10 de janeiro de 2011, de Portal de Saúde Pública: <http://www.saudepublica.web.pt/06-saudeambiental/061-Aguas/piscinas.htm>

**Podewils, L., Blevins, L., Hegenbuch, M., Itani, D., Burns, A., Otto, C., Blanton, L., Adams, S., Monroe, S., Beach, M., Widdowson, M. (2007).** Outbreak of norovirus illness associated with a swimming pool. *Epidemiol. Infect.* , 135, pp. 827-833.

**Price, D., & Ahearn, D. (1988).** Incidence and Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in Whirlpools. *Journal of Clinical Microbiology* , 26, pp. 1650-1654.

**Puech, M., McAnulty, J., Lesjak, M., Shaw, N., Heron, L., & Watson, J. (2001).** A statewide outbreak of cryptosporidiosis in New South Wales associated with swimming at public pools. *Epidemiol. Infect.*, 126 , pp. 389-396.

**Queensland Government. (2004).** *Queensland Health Swimming and Spa Pool Water Quality and Operational Guidelines (October 2004)*. Queensland Health.

**Rabi, A., Khader, Y., Alkafajei, A., & Aqoulah, A. (2007).** Sanitary Conditions of Public Swimming Pools in Amman, Jordan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*; 4 (4) , pp. 301-306.

**Realí, D., Deriu, M., Baggiani, A., & Pinto, B. (2004).** Mycobacteria in swimming pool water and the meaning of microbiological conventional indicators. *Ann Ig* , 16(1-2), pp. 247-253.

**Richardson, S; DeMarini, D; Kogevinas, M; Fernandez, P; Marco, E; Lourencetti, C; Ballesté, C; Heederik, D; Meliefste, K; McKague, B; Marcos, R; Font-Ribera, L; Grimalt, J; Villanueva, C;. (2010).** What's in the Pool? A Comprehensive Identification of Disinfection By-products and Assessment of Mutagenicity of Chlorinated and Brominated Swimming Pool Water. *Environmental Health Perspectives* , 118, pp. 1523-1530.

**Rigas, F., Mavridou, A., & Zacharopoulos, A. (1998).** Water quality of swimming pools in Athens area. *International Journal of Environmental Health Research* , 8, pp. 253-260.

**Salvato, J., Nemerow, N., & Agardy, F. (2003).** *ENVIRONMENTAL ENGINEERING* (5<sup>th</sup> ed.). JOHN WILEY & SONS, INC.

**Schets, F., Schijven, J., & Husman, A. (2011).** Exposure assessment for swimmers in bathing waters and swimming pools. *Water Research* 45 , pp. 2392-2400.

**Shields, J., Gleim, E., & Beach, M. (2008).** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia intestinalis* in Swimming Pools, Atlanta, Georgia. *Emerging Infectious Diseases* , 14, pp. 948-950.

**Sousa, J. (2000).** Enterobacteriaceae. In W. Ferreira, & J. Sousa, *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 99-101). Lidel.

**Sueitt, A. (2009).** Avaliação Ecoepidemiológica e Sanitária de Piscinas Coletivas da cidade de São Carlos - SP. *Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos* , pp. 1-80.

**Tate, D., Mawer, S., & Newton, A. (2003).** Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* folliculitis associated with a swimming pool inflatable. *Epidemiol. Infect.*, 130 , pp. 187-192.

**Thacker, N., & Nitnaware, V. (2003).** Factors Influencing Formation of Trihalomethanes in Swimming Pool Water. *Environmental Contamination and Toxicology* , 71, pp. 633-640.

**Thomas, H., & Murray, V. (2008).** Review of acute chemical incidents involving exposure to chlorine associated with swimming pools in England and Wales, June-October 2007. *Journal of Public Health* , 30, pp. 391-397.

**Tolba, O., Loughrey, A., Goldsmith, C., Millar, B., Rooney, P., & Moore, J. (2008).** Survival of epidemic strains of healthcare (HA-MRSA) and community-associated (CA-MRSA) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in river-, sea- and swimming pool water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 211 , pp. 398-402.

**Vassaluoma, M., Kalso, S., JoKipii, L., & Warhurst, D. (1995).** Microbiological quality in Finnish public swimming pools and whirlpools with special reference to free living amoebae: a risk factor for contact lens wearers? *British Journal of Ophthalmology* , pp. 178-181.

**Verma, A., Bolton, F., Fiefield, D., Lamb, P., Woloschin, E., Smith, N., McCann, R. (2007).** An outbreak of E. coli O157 associated with a swimming pool: an unusual vehicle of transmission. *Epidemiol. Infect.* 135 , pp. 989-992.

**Villanueva, C; Cantor, K; Grimalt, J; Malats, N; Silverman, D; Tardon, A; Garcia-Closas, R; Serra, C; Carrato, A; Vinyals-Castaño, G; Marcos, R; Rothman, N; Real, F; Dosemeci, M; Kogevinas, M;. (2007).** Bladder Cancer and Exposure to water Disinfection By-Products through Ingestion, Bathing, Showering, and Swimming in Pools. *American Journal of Epidemiology*; 165 , 165, pp. 148-156.

**Wang, W., Bixiong, Y., Yang, L., Li, Y., & Wang, Y. (2007).** Risk assessment on disinfection by-products of drinking water of different water sources and disinfection processes. *Environment International* 33 , pp. 219-225.

**Weingarten, M. (1977).** Otitis externa due to Pseudomonas in swimming pool bathers. *Journal of the Royal College of General Practitioners* , pp. 359-360.

**World Health Organization (WHO). (2006).** *Guidelines for safe recreational water environments, Volume 2: Swimming Pools and Similar Environments*. França: World Health Organization.

**World Health Organization (WHO). (2007).** Legionella and the prevention of legionellosis.

**Wu, Y., Tran, J., Truong, M., Harmis, N., Zhu, H., & Stapleton. (2011).** Do Swimming Goggles Limit Microbial Contamination of Contact Lenses? *Optometry and Vision Science* , 88, pp. 456-460.

## Referências eletrónicas

[1] <http://www.eb1-vilarinho-cacia.rcts.pt/mapaaveiro.htm>)